

# **L-GLUTAMINA E L-GLUTAMATO EM DIETAS PARA TILÁPIAS DO NILO (*Oreochromis niloticus*)**

Autora: Lilian Carolina Rosa Silva  
Orientador: Wilson Massamitu Furuya

Tese apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração Produção Animal

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Abril, 2008

## **Deus de Promessas**

Sei que os teus olhos  
Sempre atentos permanecem em mim  
E os Teus ouvidos  
estão sensíveis para ouvir meu clamor  
Posso até chorar...  
Mas a alegria vem de manhã  
És Deus de perto e não de longe  
Nunca mudaste, Tú és fiel

Deus de aliança, Deus de Promessas  
Deus que não é homem pra mentir  
Tudo pode passar, tudo pode mudar  
Mas Tua palavra vai se cumprir

Posso enfrentar o que for  
Eu sei quem luta por mim  
Seus planos não podem ser frustrados  
Minha esperança está  
Nas mãos do grande Eu sou  
Meus olhos vão ver o impossível  
Acontecer...

*Davi Sacer, Verônica Sacer e Ronald Fonseca*

A Deus, pelas inúmeras bênçãos que derramou sobre a minha vida e por permitir que eu chegasse até aqui;

Aos meus pais, Dulce e Eraldo, por nunca permitirem que eu desistisse nas dificuldades, pelo esforço que fizeram para que eu chegasse até aqui, por serem exemplos de caráter e de perseverança e por sempre estarem ao meu lado não só me apoiando nos momentos difíceis mais também por todo companheirismo em todas as etapas desse trabalho;

À minha irmã Carol, pelo amor e incentivo, por estar sempre ao meu lado em todos os momentos.

O amor e incentivo de vocês me ajudaram a ter força para chegar até aqui,  
e seus exemplos de vida que fizeram de mim o que eu sou...  
Com todo meu amor,  
Dedico

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela saúde e vida, pelas bênçãos derramadas em minha vida;

À Universidade Estadual de Maringá, pela formação acadêmica e pela possibilidade de desenvolver este trabalho;

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), pela bolsa de estudos concedida;

Ao Professor Dr. Wilson Massamitu Furuya, pela amizade, paciência, exemplo de profissionalismo, rica orientação a minha formação, por ter acreditado em mim em todos esses anos de trabalho e me motivado a crescer não só como profissional mas também como pessoa;

A Professora Dra. Maria Raquel Marçal Natali (DCM) pela colaboração, paciência e carinho nas sugestões ao trabalho;

Aos amigos do Grupo de Nutrição de Peixes Tropicais (GNPT), Keila, Mariana, Lilian, Christiano, Tarcila, Luiz, Marcos, Thêmis, fundamentais para a realização deste trabalho, além da amizade e companheirismo;

Às técnicas do Laboratório de Histotécnica Animal/DCM/UEM pelos ensinamentos, colaboração durante toda a confecção do material;

Aos técnicos do Laboratório de Alimentos e Nutrição/DZO/UEM pela colaboração nas análises;

À piscicultura Araucária Belmonte Rolândia-PR, Supra e Ajinomoto Biolatina, pela sustentação científica;

Ao Laboratório de Aqüicultura do Núcleo de Pesquisas em Limnologia e Aqüicultura (NUPELIA)/UEM pelo empréstimos das instalações para a execução dos experimentos;

Ao meu pai e à minha mãe, a eterna ajuda de vocês em todas as etapas deste trabalho e as muitas orações que sempre me acompanharam;

À minha irmã Carolina e meu cunhado Fernando, mais uma vez pude contar com o amor, carinho, paciência e a oração de vocês.

Aos colegas de doutorado do Programa de Pós-Graduação da Universidade Estadual de Maringá;

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

## **BIOGRAFIA**

Lilian Carolina Rosa da Silva, filha de Eraldo Gomes da Silva e de Dulce Carmen Franco Rosa Silva, nasceu em Maringá, Estado do Paraná, no dia 26 de dezembro de 1980.

Durante o período da graduação em Zootecnia, participou do Programa Especial de Treinamento – PET – UEM.

Em julho de 2003, concluiu o Curso em Zootecnia, pela Universidade Estadual de Maringá – UEM – em Maringá, Paraná.

Em maio de 2005, concluiu o Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível mestrado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Nutrição de Peixes.

Em março de 2005, iniciou o curso de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível doutorado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Nutrição de Peixes.

No dia 22 de fevereiro de 2008, submeteu-se à banca para o Exame Geral de Qualificação.

No dia de abril de 2008, submeteu-se a banca para defesa de tese de doutorado.

## ÍNDICE

	Página
<b>RESUMO</b> .....	x
<b>ABSTRACT</b> .....	xi
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	1
<b>CONSIDERAÇÕES INICIAIS</b> .....	1
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	2
1) Introdução Geral.....	2
2) Revisão de Literatura.....	3
2.1) Tilápia do Nilo.....	3
2.2) Glutamina e Glutamato.....	4
2.3) Efeitos da Glutamina e Glutamato na Mucosa Intestinal.....	8
2.4) Característica Morfofuncional do Intestino dos Peixes.....	10
3) Literatura Citada.....	13
<b>OBJETIVO GERAL</b> .....	18
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	19
<b>L-Glutamina e L-Glutamato em Dietas para Juvenis de Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)</b> .....	19
<b>RESUMO</b> .....	20
<b>ABSTRACT</b> .....	21
<b>Introdução</b> .....	22
<b>Material e Métodos</b> .....	23
<b>Resultados e Discussão</b> .....	27
<b>Conclusão</b> .....	30
<b>Literatura Citada</b> .....	30
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	33
<b>L-Glutamina e L-Glutamato em Dietas para Alevinos de Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)</b> .....	33
<b>RESUMO</b> .....	34
<b>ABSTRACT</b> .....	35
<b>Introdução</b> .....	36
<b>Material e Métodos</b> .....	37
<b>Resultados e Discussão</b> .....	42
<b>Conclusão</b> .....	47
<b>Literatura Citada</b> .....	47
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	50

## TABELAS DO APÊNDICE

CAPÍTULO 2	Página
Tabela 1 – Composição percentual da dieta controle.....	25
Tabela 2 – Desempenho de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de L-glutamina e L-glutamato.....	28
Tabela 3 – Valores de composição química da carcaça de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de L-glutamina e L-glutamato.....	29
CAPÍTULO 3	
Tabela 1 – Composição percentual da dieta controle.....	39
Tabela 2 – Desempenho de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de L-glutamina e L-glutamato.....	42
Tabela 3 – Valores de composição química corporal de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de L-glutamina e L-glutamato.....	43
Tabela 4 - Parâmetros sanguíneos de alevinos de tilápias do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de L-glutamina e L-glutamato.....	43



## FIGURAS DO APÊNDICE

CAPÍTULO 1	Página
Figura 1 – Catabolismo da L-glutamina e L-glutamato.....	6
Figura 2 – Metabolismo da glutamina e glutamato em células de mamíferos...	7
CAPÍTULO 3	
Figura 1 – Fotomicrografia do segmento médio do intestino de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com 0,4% de L-glutamina e L-glutamato destacando as vilosidades (V), epitélio da mucosa (M), túnica submucosa (SM), túnica muscular (MC), túnica serosa (S) e célula caliciforme (C). Coloração HE. Barra = 200 µm.....	45
Figura 2 – Altura das vilosidades intestinais de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de L-glutamina e L-glutamato.....	46

## RESUMO

Foram realizados dois estudos para avaliar os níveis de L-glutamina e L-glutamato em dietas para a tilápia do Nilo, da linhagem tailandesa. Foi utilizada dieta controle com suplementação de Aminogut<sup>®</sup>, fonte de L-glutamina e L-glutamato, na proporção de 0, 1, 2, 3% da dieta. No primeiro estudo, os juvenis de tilápia do Nilo ( $27,76 \pm 0,76$  g) foram distribuídos em gaiolas com  $0,12 \text{ m}^3$  em delineamento em blocos casualizados, com quatro tratamentos, quatro repetições e 14 peixes por unidade experimental. Foi utilizada uma dieta controle com 30% de proteína bruta e 2980 kcal/kg de energia digestível, sendo os peixes alimentados até saciedade aparente durante 47 dias. No segundo estudo, os alevinos de tilápias do Nilo ( $0,60 \pm 0,1$  g) foram distribuídos em tanques de  $0,8 \text{ m}^3$  um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e três repetições e com 90 peixes por unidade experimental. Foi utilizada uma dieta controle com 33% de proteína bruta e 2940 kcal/kg de energia digestível e os peixes foram alimentados até saciedade aparente durante 85 dias. Os parâmetros analisados nos dois experimentos foram: desempenho, composição química da carcaça, altura das vilosidades intestinais e amônia e uréia sangüínea. No primeiro estudo, não foram observados efeitos nos peixes alimentados com dietas suplementadas com L-glutamina e L-glutamato para desempenho, altura dos vilos e composição química da carcaça. No segundo estudo, consumo, conversão alimentar, taxa de eficiência protéica, retenção de nitrogênio, índice hepato somático, composição química da carcaça e amônia e uréia sangüínea não foram influenciados pela L-glutamina e L-glutamato. Foi observado aumento linear dos níveis de L-glutamina e L-glutamato para o ganho de peso. Foi observado efeito quadrático dos níveis de L-glutamina e L-glutamato sobre a altura dos vilos. Concluiu-se que a adição de L-glutamina e L-glutamato aumenta o ganho de peso e a altura dos vilos de alevinos de tilápia do Nilo.

Palavras-chave: aminoácido, desempenho, mucosa intestinal, peixe

## ABSTRACT

Two studies were carried out to evaluate the dietary L-glutamine and L-glutamate in diets for Nile tilapia. It was utilized basal diet with supplemented with Aminogut<sup>®</sup>, source of L-glutamine and L-glutamate, in proportion of 0, 1, 2 and 3% of diet. In the first study, the juveniles Nile tilapia ( $27.76 \pm 0.76$  g) were distributed in cages of  $0.12\text{m}^3$  in a randomized block design and four treatments with four replicates and fourteen fish per experimental unit. It was used a basal diet with 30% of crude protein and 2,980 kcal/kg of digestible energy and fish were fed to satiation during 47 days. In the second study, fingerlings Nile tilapias ( $0.60 \pm 0.1$  g) were distributed in tanks of  $0.8\text{m}^3$  using a complete randomized experimental design with four treatments, three replicates and 90 fish per experimental unit. It was used a basal diet with 33% of crude protein and 2,940 kcal/kg of digestible energy and fish were fed to satiation during 85 days. The analyzed parameters in both experiments were: performance, carcass composition, villus height and blood ammonia and urea. In the first study, no effects were observed in fish fed with diets supplemented with L-glutamine and L-glutamate on performance, villus height and carcass composition. In the second study, feed intake, feed:gain ratio, protein efficiency ratio, nitrogen retention, hepatic somatic index, carcass composition and blood ammonia were not influence by L-glutamine and L-glutamate. It was observed a linear increase of L-glutamine and L-glutamate levels on weight gain. It was observed a quadratic effect of L-glutamine and L-glutamate levels on liver weight and villus height. It was concluded that the addition of L-glutamine and L-glutamate increase weight gain and villus height of Nile tilapia fingerlings.

Key-words: amino acid, fish, intestinal mucous, performance

# **CAPÍTULO 1**

## **CONSIDERAÇÕES INICIAIS**

## INTRODUÇÃO

### 1) Introdução Geral

A produção mundial de pescados capturados já atingiu sua capacidade máxima nos últimos 30 anos, tendo se mantido estável, em algumas regiões e até declinado em outras, apesar da evolução dos equipamentos e técnicas de pesca. Por outro lado, a produção oriunda da piscicultura vem crescendo a cada ano, chegando ao valor de 47,8 milhões de toneladas em 2005 (FAO, 2006). Uma análise da produção mundial revela que mais de 85% é formada por peixes de água doce (Zamboni-Filho, 2004), chegando a 28,9 milhões de toneladas de peixes de água doce provenientes de cultivo (FAO, 2006).

Dentre esses peixes de água doce, os ciclídeos representam cerca de 10,9% da produção mundial de pescados cultivados (FAO, 2006). Neste grupo destacam-se as tilápias, ciclídeos nativos da África e Palestina. O Brasil participou com cerca de 55,8% do total de tilápias produzidas em 2002. A tilápia do Nilo é considerada uma das espécies mais indicadas para a criação intensiva pela sua alta taxa de crescimento, adaptabilidade às mudanças no ambiente, reprodutibilidade e por estar em um nível trófico baixo (El-Sayed, 2006) podendo mudar o principal item ingerido em função da disponibilidade de alimento (Zamboni-Filho, 2004). Além disso, possui carne branca de textura firme e sem espinhos em “Y”, sendo propícios para a filetagem.

No aspecto econômico, devido ao alto custo da alimentação, existe uma pressão considerável para a redução dos excessos nas formulações das dietas, principalmente dos nutrientes de preço mais elevado. O desenvolvimento de dietas de alto valor nutricional e ambientalmente corretas que garantam a economicidade das criações, dependem do aprofundamento dos conhecimentos sobre as espécies produzidas, principalmente em relação ao manejo alimentar e exigências nutricionais (Portz, 2001).

A farinha de peixe representa a fonte de proteína mais adequada para a utilização em dietas para peixes. Devido ao seu alto custo, tem-se buscado fontes de origem animal como alternativa para sua substituição. Essas fontes não apresentam o

mesmo perfil de aminoácidos da farinha de peixe e o uso de aminoácidos sintéticos na suplementação de dietas para peixes tem sido necessário para garantir bom balanceamento das dietas.

A glutamina pode ser considerada um aminoácido essencial para animais jovens, pois seu organismo não consegue sintetizá-lo em quantidades adequadas para satisfazer suas necessidades nutricionais. Além disso, há poucas informações na literatura sobre a glutamina e o glutamato nas matérias-primas das dietas utilizadas na alimentação animal. O uso desses aminoácidos nas dietas tem sido feito através da observação na melhoria do desempenho produtivo dos animais que receberam suplementação com estes aminoácidos (Yi & Allee, 2006).

A glutamina é o aminoácido livre mais abundante na circulação e no espaço intracelular tendo funções metabólicas específicas e importantes e pode ser considerado um aminoácido essencial em algumas espécies como suínos e frangos de corte, quando há condições inflamatórias, como infecção ou ferimento (Newsholme, 2001).

A glutamina e glutamato são os principais combustíveis da mucosa do intestino delgado e são precursores essenciais da síntese intestinal de glutatona, óxido nítrico, poli-aminas, nucleotídeos purina e pirimidina e aminoácidos (alanina, citrulina e prolina). Estes aminoácidos também são obrigatórios para a manutenção da integridade da mucosa intestinal e da massa da mucosa intestinal (Wu, 1998). As células da mucosa do trato digestivo, assim como outras células de proliferação rápida, têm uma exigência obrigatória de glutamina, uma vez que esta fornece metade da exigência de nitrogênio para a síntese de purina e pirimidina via ação da carbamil-sintetase II do citosol (Lobley et al., 2001).

## 2) Revisão de Literatura

### 2.1) Tilápia do Nilo

A tilápia, nome comum dado aos vários gêneros de ciclídeos de água doce, entre eles os gêneros *Oreochromis* e *Tilapia*, compõem o grupo de peixes que mais crescem em termos de comercialização mundial (Hempel, 2002). São nativos da África, Israel e Jordânia, e se espalharam pelo mundo nos últimos 50 anos, sendo produzidos em mais de 100 países com diversos climas, sistemas de produção e

salinidades, devido a sua variada fisiologia adaptativa, biologia reprodutiva, plasticidade genética, fácil domesticação e comercialização (Zimmermann & Fitzimmons, 2004).

Apesar de compor um grupo de mais de 70 espécies desses dois gêneros (*Tilapia* e *Oreochromis*) de acordo com a FAO (2006) 80% das tilápias produzidas no mundo são da espécie nilótica (*Oreochromis niloticus*). A tilápia do Nilo foi implantada no Brasil em 1971 e em 1996 foram trazidos exemplares da população *Chitralada*, vindas da Tailândia, dando dessa forma um novo impulso a tilapicultura intensiva no Brasil (Zimmermann & Fitzimmons, 2004).

A tilápia do Nilo é facilmente reconhecida pelas listras verticais presentes na nadadeira caudal, possui coloração cinza azulada, corpo curto e alto, cabeça e nadadeira caudal pequenas. Naturalmente, alimenta-se de microrganismos que compõem o plâncton, porém, na presença de excesso de alimento, comporta-se como uma espécie onívora. Atinge até cinco quilos, possui rápido crescimento, carne de bom paladar e sem espinhos intramusculares em “Y” e bom rendimento de filé (32%). É uma espécie de clima tropical que necessita de uma temperatura mínima de 15°C, sendo ideal que esteja acima de 25°C e abaixo de 32°C (El-Sayed, 2006).

A tilápia do Nilo é considerada uma das espécies mais promissoras para a piscicultura, pelo rápido crescimento, pela facilidade de obtenção de larvas, pela rusticidade e pelo hábito alimentar onívoro, consumindo dieta logo após o início da alimentação exógena. Entre as espécies de água doce não carnívoras, as tilápias têm se destacado pela elevada capacidade de utilizar a energia e os nutrientes dos ingredientes de origem vegetal e animal. Isso possibilita a elaboração de dietas práticas de mínimo custo e elevado valor nutritivo (Hanley, 1987; Pezzato et al., 2004).

## 2.2) Glutamina e Glutamato

A glutamina é um aminoácido gliconeogênico neutro que pode ser sintetizado por todos os tecidos, sendo que, a maior síntese de glutamina ocorre no músculo esquelético. A glutamina é transformada a  $\alpha$ -cetoglutarato que será oxidada completamente no ciclo de Krebs formando 30 mols de ATP para cada mol de glutamina (Van Der Hulst, 1993). É sintetizada por tecidos como o fígado, músculo esquelético ou astrócitos a partir de glutamato, valina e isoleucina, sob a ação da

enzima glutamina sintetase, responsável em promover a interação entre o glutamato e a amônia. Já a reação inversa é controlada pela glutaminase que determina se o tecido é consumidor ou produtor de glutamina (Forti et al., 2003).

A glutamina encontra-se livre em maior quantidade no tecido muscular esquelético e no plasma, além de ser o principal metabólito para os enterócitos (Maiorka et al., 2002), possuindo função de aumentar a resposta linfocítica à estimulação de mitógenos (Taudou et al., 1983) evitando assim o risco de fragilidade da barreira entre o conteúdo bacteriano do lúmen intestinal e a circulação, enfraquecendo o tecido linfóide associado ao intestino (Boelens et al., 2001). Também pode atuar como sinal ou regulador de demandas metabólicas, aumentando a síntese de proteína e diminuindo a degradação de proteína no músculo esquelético e estimulando a síntese de glicogênio no fígado (Smith, 1990; Haussinger et al., 1994).

Atua no rim como principal doador de amônia proveniente da quebra da glutamina em glutamato para formação de  $\text{NH}_4^+$ , no fígado a glutamina tem grande importância no metabolismo do nitrogênio, produção de energia, gliconeogênese e controle dos níveis de amônia no sangue. E para as células do sistema imune além da síntese de nucleotídeos e produção de energia tem papel importante através do glutamato como precursor de glutatona responsável pela defesa antioxidante destas células (Newsholme et al., 2003).

A glutamina e o glutamato possuem papel vital no metabolismo do nitrogênio devido aos seus grupos amino agruparem-se com o grupo  $\alpha$ -amino e amido (Newsholme et al., 2003), fornecem metade da exigência de nitrogênio para a síntese de purina e pirimidina e também para alguns aminoácidos (Lobley et al., 2001). Este duplo enlace de nitrogênio permite a glutamina ter a função de transportadora de nitrogênio, pois proporciona nitrogênio em seus produtos para a síntese de uréia e amônia (Newsholme et al., 2003). Este metabolismo segue duas rotas. Na primeira, o nitrogênio da porção amida da glutamina é utilizada para a síntese de purina e pirimidina e a porção amino para a síntese de açúcares. Na segunda rota, as cadeias de carbono e o  $\alpha$ -amino grupo da glutamina entram na rota para a síntese de outros aminoácidos como a prolina, ornitina e arginina (Wu, 1998). Esta divisão bioquímica do metabolismo da glutamina reflete a compartimentalização intracelular, visto que a purina, a pirimidina e a síntese de açúcares são componentes citoplasmáticas e o metabolismo do esqueleto carbônico é iniciado pela desaminação da glutaminase mitocondrial fosfato dependente (Curthoys & Watford, 1995).



A glutamina além do importante papel no desenvolvimento da mucosa intestinal possui também outras funções na estrutura da mucosa, como ser precursora de n-acetilglucosamina e n-acetilgalactosamina para a síntese de mucina e também garantindo a eficiência das junções de oclusão, componentes estes usados para garantir a manutenção da barreira passiva de entrada bacteriana na mucosa (Wu et al., 1995).

O glutamato é utilizado em algumas via para a substituição da glutamina (Figura 1), a via comum entre esses dois aminoácidos é a metabolização da glutamina em glutamato mais amônia pela glutaminase, já o glutamato é degradado a  $\alpha$ -cetogluturato via transaminação através da enzima glutamato sintetase (Reeds & Burrin, 2001) e o glutamato também pode ser transformado em glutamina pela ação da glutamina sintetase (Maiorka et al., 2002), sendo então considerados como substratos permutáveis na mucosa intestinal (Wu et al., 1995). Além de ser permutável com a glutamina, o glutamato ou ácido glutâmico também pode ser precursor da biossíntese de glutathiona, arginina e prolina e importante substrato oxidativo da mucosa intestinal (Reeds et al., 2000).

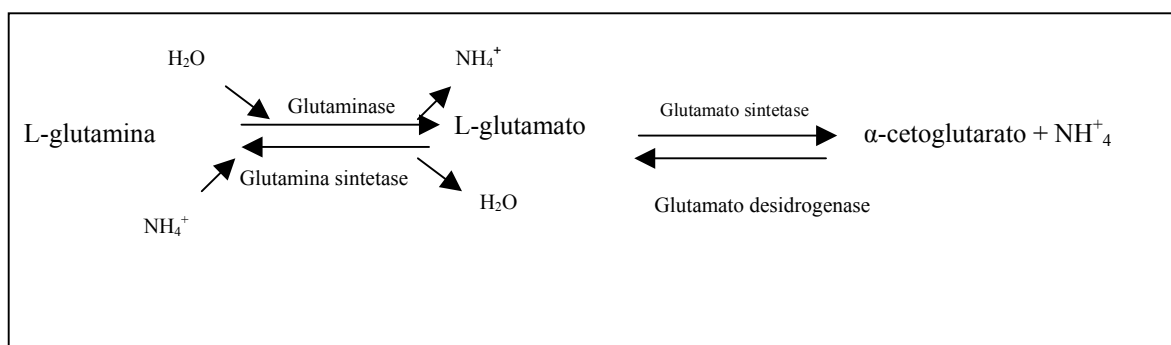


Figura 1 – Catabolismo da L-glutamina e L-glutamato  
Adaptado: Nelson & Cox (2003).

A glutamina e o glutamato desempenham papéis especiais na síntese de amônia, que é produzida pela metabolização dos aminoácidos no fígado sendo reciclada e o excesso excretado. O grupo amino desses aminoácidos são transferidos para o  $\alpha$ -cetogluturato no citosol dos hepatócitos para a formação de glutamato que será então transportado para a mitocôndria onde NH<sub>4</sub><sup>+</sup> será formado. O excesso de NH<sub>3</sub> de outros tecidos é convertido no grupo n-amida da glutamina e transportada para a mitocôndria do hepatócito (Nelson & Cox, 2003). A enzima glutaminase (Figura 2) converte a glutamina em glutamato e amônia, estando presente em quase todos os tecidos, sendo que o intestino apresenta uma quantidade maior dessa enzima (Souba & Klimberg, 1990).

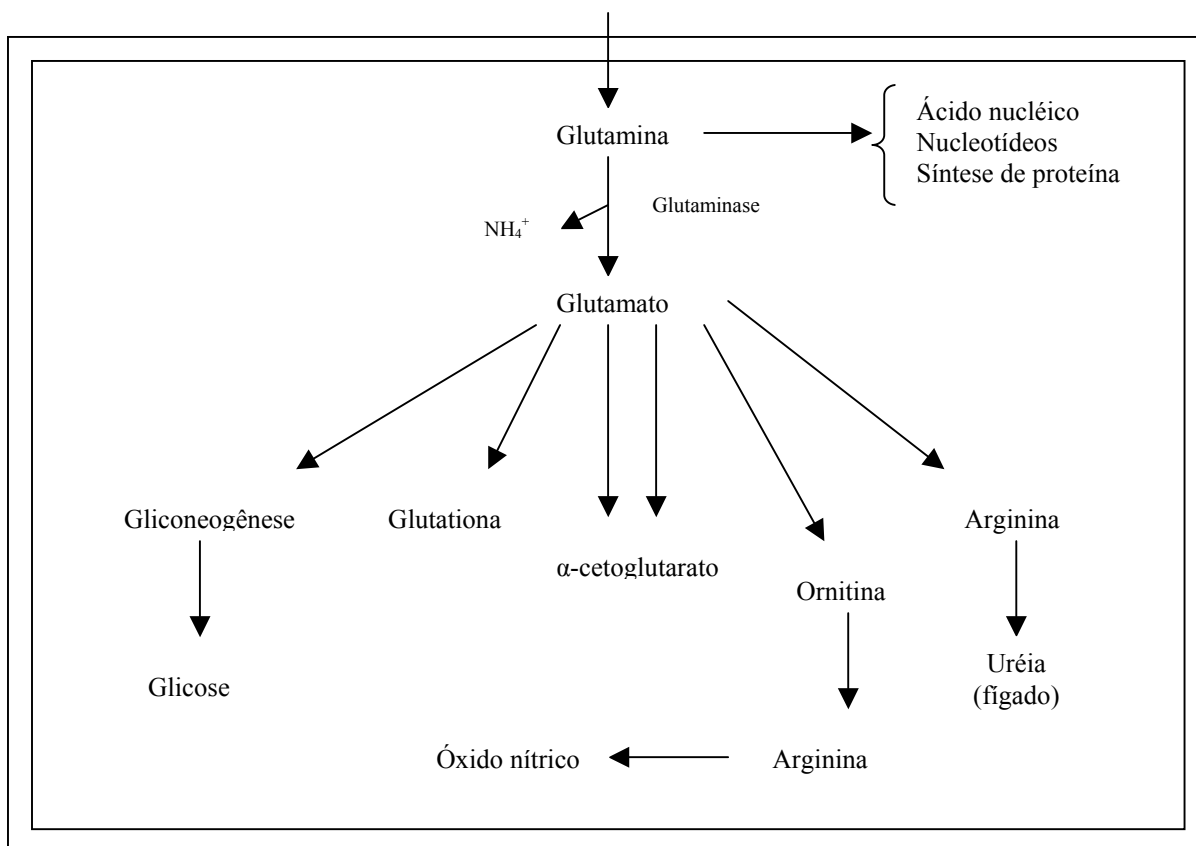


Figura 2 – Metabolismo da glutamina e glutamato em células de mamíferos  
Fonte: Newsholme et al. (2003).

A maioria dos peixes ósseos excreta nitrogênio na forma de amônia (amoniotéticos) que é rapidamente retirada do sangue pelas brânquias através do grande volume de água que passa por essa estrutura. Embora os peixes sejam muito sensíveis a amônia, os peixes são mais tolerantes ao íon amônio que os animais terrestres e a amônia é excretada em um grande volume de água (Nelson e Cox, 2003). A amônia excretada para a água é proveniente dos aminoácidos por desaminação ou transaminação e contém menos resíduos energéticos que a uréia ou ácido úrico e requer menos energia para a excreção (Lundstedt, 2003). A perda em amônia representa de 70 a 90% da perda total de nitrogênio pelos peixes, com 5 a 15% sendo excretado como uréia, cerca de 80 a 90% da excreção de nitrogênio em peixes ocorre diretamente pelas brânquias e o restante pela urina. A amônia por ser tóxica é excretada rapidamente para prevenir acúmulo nos tecidos (Halver & Hardy, 2002).

Os peixes utilizam facilmente proteína como fonte de energia por meio do catabolismo de aminoácidos, processo que também está relacionado a síntese protéica (Hepher, 1989). A utilização de aminoácidos, derivados tanto da dieta quanto da quebra de tecidos protéicos, ocorre em dois estágios sequenciais: primeiro na

desaminação e/ou transaminação dos aminoácidos, segundo, na utilização metabólica ou oxidação deste intermediário (Sanchez-Muros et al., 1998; Lundstedt, 2003).

A suplementação de glutamina na dieta aumenta os níveis de glutamina plasmática e a suplementação de glutamina pode causar mudanças no metabolismo da glicose, já que a glicosamina, produzida no músculo via hexosamina, derivada da glicose na presença de glutamina, possui efeitos inibitórios no transporte e eliminação da glicose do corpo (Rennie et al., 2001).

A glutamina é considerada um aminoácido não essencial, mas em condições de estresse passa a ser essencial, pois o intestino nestas condições retira este aminoácido da circulação para apoiar o metabolismo e função celular (Whitney & Cataldo, 1983). A captura da glutamina pelo intestino, rins e linfócitos excede a quantidade liberada e retirada das reservas disponíveis no organismo. Em situações de estresse prolongado a proteólise do músculo esquelético e a translocação de aminoácidos para os órgãos aumenta, diminuindo a quantidade de glutamina no plasma, nos tecidos e na mucosa intestinal que começa a atrofiar devido ao aumento da permeabilidade da mucosa intestinal e número aumentado de bactérias (Wilmore & Smith, 1988).

### 2.3) Efeitos da Glutamina e Glutamato na Mucosa Intestinal

A utilização de glutamina e glutamato em dietas já foi descrito por diversos autores para suínos e frangos de corte, mas poucos trabalhos são descritos com peixes, não se sabendo ainda quais os níveis adequados da L-glutamina e L-glutamato e os efeitos que estes aminoácidos podem causar para as diferentes espécies de peixes.

Em estudos com suínos, Lackeyram et al. (2001) relataram que a suplementação de 0,8% de L-glutamina em dietas à base de milho e farelo de soja foi eficaz para aumentar o ganho de peso corporal, do intestino delgado e o crescimento de outros órgãos viscerais em leitões submetidos a desmame precoce aos dez dias de idade em um estudo de 12 dias. Kitt et al. (2001) relataram que a suplementação da dieta com 1% de L-glutamina melhorou o desempenho zootécnico de leitões desmamados, mas não influenciou a altura das vilosidades nos primeiros quatro dias após o desmame. Além disso, a eficiência alimentar do dia 14º ao 21º após o desmame

melhorou com a adição de L-glutamina. Wu et al. (1995) verificaram que a suplementação com 1% de L-glutamina para leitões preveniu a atrofia das vilosidades do jejuno, mas não do duodeno, sete dias após o desmame e melhorou a conversão alimentar durante a segunda semana pós-desmame. Já, House et al. (1994) observaram que suínos alimentados com dietas contendo 1,5% de L-glutamina, apresentaram aumento de peso vivo, sem haver modificação do teor corporal de proteína, gordura e cinzas da carcaça. E Yoo et al. (1997) não observaram diferenças da inclusão de L-glutamina na dieta de leitões desmamados. Já nos leitões desmamados e expostos à infecção bacteriana, a suplementação de 4% de L-glutamina, manteve os níveis de glutamina muscular e a resposta imune em níveis normais, semelhante ao dos animais não infectados.

A suplementação de L-glutamina na dieta dá suporte a um aumento na atividade metabólica dos enterócitos bem como sua proliferação, maturação e migração das células da cripta ou da manutenção da função de linfócitos no intestino (Alverdy et al., 1992). Segundo Rhods et al. (1997) a glutamina estimula a proliferação de linhagens de células do jejuno de suínos pela oxidação da glutamina, que estimula as trocas de  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  na membrana do enterócito, levando a maior absorção de NaCl tanto no epitélio íntegro como no epitélio lesado e aumenta também a atividade específica da descarboxilase. A glutamina pode aumentar a taxa de transporte nas microvilosidades sintetizando nucleotídeos para o desenvolvimento da mucosa intestinal com aumento na altura e densidade dos vilos na área de superfície apical dos microvilos dos enterócitos (Fischer da Silva, 2001).

Para frangos de corte, Maiorka et al. (2000) observaram que a suplementação de 1% de L-glutamina na dieta melhorou a mucosa intestinal na primeira semana de vida, mas não melhorou as variáveis de desempenho dos frangos, na segunda semana não houve aumento na mucosa intestinal exceto para a profundidade da cripta e nem melhora no desempenho dos animais. Murakami et al. (2007) observaram aumento da altura de vilo, profundidade de cripta e relação vilo:cripta dos frangos de corte com 41 dias de vida que receberam 1% de L-glutamina, também não observaram melhora no desempenho dos frangos.

Em estudos com perus Yi et al. (2001) observaram que a suplementação com 1% de L-glutamina aumentou o crescimento na primeira semana e a eficiência alimentar durante as três primeiras semanas de idade, mas não teve efeitos benéficos sobre a morfometria da mucosa intestinal em comparação com dieta controle.

Yan & Qiu-Zhou (2006) em estudo com juvenis de carpa comum (*Cyprinus carpio* var. Jian), forneceram dietas contendo 0; 0,4; 0,8; 1,2; 1,6 e 2% de L-glutamina durante 80 dias, e observaram que os peixes alimentados com 1,2% de L-glutamina apresentaram melhora no desempenho, aumento da altura das vilosidades intestinais e melhora na função intestinal dos peixes com aumento da atividade das enzimas do intestino. Dessa forma a suplementação de L-glutamina pode ter importância significativa para a produção de peixes e a prevenção de danos ao epitélio intestinal dos animais.

#### 2.4) Característica Morfofuncional do Intestino dos Peixes

Os peixes apresentam grande variação de seu hábito alimentar, podendo ser classificados em herbívoros, carnívoros e onívoros. O hábito alimentar pode mudar ao longo da vida. Além disso, os peixes apresentam diversas adaptações do sistema digestório conforme a especialização requerida para ingerir, digerir e absorver os diferentes tipos de alimentos. A filogenia também deve ser levada em consideração, pois espécies com hábitos alimentares semelhantes, mas de famílias distintas, podem apresentar diferenças nos componentes dos sistemas digestórios (Baldisseroto, 2002).

O conhecimento morfofuncional do sistema digestório dos peixes tem grande importância para a formulação e elaboração de dietas que atendam as exigências dos peixes, garantindo assim uma melhora no desempenho e saúde dos animais. O sucesso da aquicultura depende do conhecimento das características morfofisiológicas e comportamentais das espécies em criação. Principalmente, pelo fato de que muitas das modificações no sistema digestório estão relacionadas com o tipo de alimentação do peixe.

O sistema digestório dos peixes vai da boca até o ânus e pode ser dividido segundo Rotta (2003) em intestino anterior (esôfago e estômago), intestino médio (intestino propriamente dito) e intestino posterior (reto). Kapoor et al. (1975) observaram que a estrutura anatômica do intestino dos peixes depende do hábito alimentar da espécie e, particularmente, o comprimento relativo do intestino depende da natureza do alimento, os peixes com hábito alimentar herbívoro apresentam o intestino mais longo e os peixes com hábito alimentar carnívoro possuem o intestino mais curto.

O intestino é um tubo com pregas que completam a digestão iniciada no estômago, também absorvem os nutrientes, a água e os íons, possui uma estrutura relativamente simples, iniciando na válvula pilórica e terminando no reto, não sendo separado em delgado e grosso, como nos mamíferos. Na primeira porção do intestino ocorre a absorção de nutrientes em suas formas menores (monossacarídeos, aminoácidos e ácidos graxos), enquanto a segunda parte é responsável pela entrada de macromoléculas por pinocitose (mecanismo de penetração de fluidos na célula através da invaginação da membrana celular, com a formação de vesículas internas) (Rotta, 2003).

A mucosa intestinal compreende uma extensa área, exposta aos agentes exógenos presentes durante a ingestão, digestão e absorção de nutrientes. É considerada a maior interface entre o hospedeiro e ambiente. Suas células regulam a entrada de nutrientes da ingesta e defendem o organismo contra os agentes nocivos presentes no lúmen (Maiorka et al., 2000). Tem crescimento contínuo e é afetada não apenas pelos hormônios metabólicos (insulina, GH, tiroxina e glicocorticóides) como também por outros fatores relacionados com o alimento, como as características físicas e químicas dos nutrientes e microflora intestinal (Zhao et al., 1998).

A superfície da mucosa intestinal dos peixes tem numerosas projeções e pregas profundas de epitélio simples com células secretoras de muco. As pregas se ramificam paralelamente na forma de uma superfície reticular. A camada de tecido conjuntivo se estende para dentro das pregas da mucosa formando um núcleo de tecido conjuntivo. A camada muscular da mucosa separa a lâmina própria da submucosa. A camada submucosa possui uma lâmina própria com vasto número de vasos sanguíneos formando uma rede de capilares que se conecta com a parte basal do enterócito, a camada muscular é organizada em duas camadas distintas de músculo liso denominadas de circular interna e longitudinal externa (Gargiulo et al. 1998) e a serosa formada inteiramente de tecido conjuntivo frouxo e revestida por mesotélio (Takashima & Hibiya, 1995).

Os vilos são evaginações da mucosa (epitélio e lâmina própria) que se projetam na luz do intestino para aumentar a área de superfície para a digestão e absorção intestinal (Junqueira & Carneiro, 2004) e constituídos pelas células caliciformes, enterócitos e enteroendócrinas (Boleli et al., 2002). As células caliciformes que possuem um citoplasma vacuolizado são secretoras de glicoproteínas (muco) e lubrificam e protegem o epitélio do intestino (Junqueira & Carneiro, 2004),

sendo o enterócito a célula de absorção final e digestão, as células enteroendócrinas são produtoras de hormônios como gastrina, colecistoquinina, secretina e polipeptídeo inibidor gástrico.

Os enterócitos são células polarizadas que constituem a maior população de células epiteliais que revestem o intestino. Durante o processo de diferenciação e migração para a vilosidade, ocorre aumento no tamanho absoluto das células e no tamanho relativo do citoplasma, no número de mitocôndrias, do retículo endoplasmático e de microvilosidades das células. Ao mesmo tempo em que os enterócitos adquirem novas aptidões metabólicas, passam a expressar receptores e transportadores relacionados com o processo de absorção e a secretar enzimas digestivas (Van Dongen et al., 1976). Outro fator relevante para a absorção dos nutrientes na membrana luminal é a quantidade de microvilos existentes nos enterócitos, o número de microvilos atua como um amplificador de área para a absorção dos nutrientes (Macari & Maiorka, 2000).

A porção posterior do intestino dos peixes possui algumas estruturas diferentes da porção cranial, apresentando uma redução no comprimento e complexidade das vilosidades da mucosa. Possui grande número de células caliciformes e células enteroendócrinas menos numerosas (Takashima & Hibiya 1995). O intestino da tilápia é anatomicamente e histologicamente mais simplificado que o intestino dos mamíferos. O intestino proximal possui vilosidades maiores para aumentar a área de superfície devido a mistura do alimento com o suco pancreático e hepático, bem como o muco secretado pelas células caliciformes (Gargiulo et al., 1998).

A digestão e absorção intestinal estão relacionadas com a proliferação celular que ocorre nas criptas, pois à medida que suas células sofrem mitoses vão sendo deslocadas para a região basal do vilos para que ocorra a diferenciação celular, são então deslocadas para a região apical dos vilos para exercerem sua função (Boleli et al., 2002). Os peixes não apresentam criptas como os vertebrados e a função de proliferação celular do epitélio do vilos é realizada por células indiferenciadas na base do vilos que realizam inúmeras mitoses para formação de novas células (Jobling, 1995).

O desenvolvimento da mucosa intestinal consiste no aumento da altura e densidade dos vilos, o que corresponde a um aumento no número de suas células epiteliais (enterócitos, células caliciformes e enteroendócrinas). Isso ocorre, devido a renovação celular (proliferação e diferenciação) com mitoses ou por perda de células

(extrusão) que ocorrem nas criptas (Maiorka et al., 2002), ou no caso dos peixes na base do vilos. Esse processo de renovação garante que as estruturas da mucosa intestinal sejam mantidas e assim, haja manutenção da digestão e absorção dos nutrientes pelos enterócitos presentes nos vilos.

O tamanho e a densidade dos vilos estão relacionados com a perda de células e renovação celular pelo epitélio da mucosa intestinal, o desequilíbrio do processo de renovação celular a favor de um aumento na proliferação tem papel relevante, pois maximiza a digestão e absorção intestinal para maior ganho de peso. Assim, vários componentes da dieta tem sido testados para o crescimento da mucosa intestinal (Boleli et al., 2002).

Esses componentes denominados de agente tróficos estimulam o desenvolvimento da mucosa intestinal, aumentando a mitose e, portanto, o tamanho dos vilos (Maiorka et al., 2002). Existem vários agentes tróficos usados na dieta e, entre eles, a glutamina e glutamato têm sido muito pesquisados não só para os animais de criação, mas também para humanos, por seu papel na manutenção da estrutura da mucosa intestinal.

### 3) Literatura Citada

- ALVERDY, J.A.; AOYS, E.; WEISS-CARRINGTON, P. et al. The effect of glutamine-enriched TPN on gut immune cellularity. **Journal Surgery Research**, v.52, p.34–38, 1992.
- BALDISSEROTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: Editora UFSM, 2002. 212p.
- BOELEN, P.G.; NIJVELDT, R.J.; HOUDIJK, A.P. et al. Glutamine alimentation in catabolic state. **The Journal of Nutrition**, p.2569 – 2577, 2001.
- BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZÁLES, E.P. (Ed.) **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**, Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p.75-96.
- BURRIN, D.G.; STOLL, B.; JIANG, R. et al. Minimal enteral nutrient requirements for intestinal growth in neonatal pigs: how much is enough. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.71, p.1603-1610, 2000.
- CURTHOYS, N. P.; WATFORD, M. Regulation of glutaminase activity and glutamine metabolism. **Annual Review Nutrition**, v.15, p.133–159, 1995.
- EL-SAYED, A.M. **Tilapia culture**. London: Cabi. 2006. 277p.



- FISCHER DA SILVA, A.V. **Efeitos da restrição alimentar precoce e da glutamina no desempenho e na mucosa intestinal em frangos**. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, 2001. 77p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2001.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. Aquaculture Production Statistics 2000- 2005. **FAO Fisheries Circular**. [www.fao.org](http://www.fao.org). Rome, Italy. 2006.
- FORTI, F.; CANCELLIERO, K.M. et al. O efeito da glutamina no músculo esquelético desnervado. **Saúde Revista**, v.5, n.9, p.59-65, 2003.
- GARGIULO, A.M.; CECCARELLI, P.; DALL'AGLIO, C. et al. Histology and ultrastructure of the gut of the tilapia (*Tilapia spp.*), a hybrid teleost. **Anatomic Histology and Embryology**, v.27, p.89-94, 1998.
- HALVER, J.E.; HARDY, R.W. Nutrient flow and retention. In: HALVER, J.E.; HARDY, R.W. (Eds) **Fish nutrition**. 3 ed., Academic Press, 2002. p.755-770.
- HANLEY, F. The digestibility of foodstuffs in the effects of feeding selectivity on digestibility determination in tilapia, *Oreochromis niloticus*, **Aquaculture**, v.66, p.163-179, 1987.
- HAUSSINGER, D.; LANG, F.; GEROK, W. Regulation of cell function by cellular hydration state. **American Journal Physiology**, v.267, p.E343-E355, 1994.
- HEMPEL, E. Tilapia, the new whitefish. **Seafood International**, v.17, n.10, p.16-20, 2002.
- HEPHER, B. Principles of fish nutrition. In: SHILO, M.; SARIG, M. (Eds.). **Fish culture in warm water system: problems and trends**. Boca Raton: CRT. 1989. p.121-141.
- HOUSE, J.D.; PENCHARZ, P.B.; BALL, R.O. Glutamine supplementation to total parenteral nutrition promaternal extracellular fluid expansion in piglets. **The Journal of Nutrition**, v.131, p.396-404, 1994.
- JOBLING, M. **Environmental Biology of fishes. Fish and Fisheries Series 16**. 1995 455p.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10 ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2004. 488p.
- KAPOOR, B.G.; SMITH, H.; VERIGHINA, I.A. The alimentary canal and digestion in teleosts. **Advances Marine Biology**, v.13, p.109-139, 1975.
- KITT, S.J.; MILLER, P.S.; LEWIS, A.J. et al. Effects diet and crystalline glutamina supplementation of growth performance and small intestine morphology of weanling pigs. **Journal Animal Science**, v.79, p.10. 2001.
- LACKEYRAM, D.; YUE, X.; FAN, M.Z. Effects dietary supplementation of crystalline L-glutamine on the gastrointestinal tract and whole body growth in

- early-weaned piglets fed corn and soybean meal – based diets. **Journal Animal Science**, v.79, p.230-231, 2001.
- LOBLEY, G.E.; HOSKIN, S.O.; MCNEIL, C.J. Glutamine in animal science and production. **The Journal of Nutrition**, v.131, p.255S- 2531S, 2001.
- LUNDSTEDT, L.M. **Aspectos adaptativos dos processos digestivos e metabólicos de juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) arraçoados com diferentes níveis de proteína e energia**. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos. 2003. 140p. Tese (Doutorado em Genética e Evolução) – Universidade Federal de São Carlos, 2003.
- MACARI, M.; MAIORKA, A. Função gastrointestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas, São Paulo. **Anais...** São Paulo: APINCO, 2000, v. 2, p.161-174.
- MAIORKA, A.; SILVA, A.V.F.; SANTIN, E. et al. Influência da suplementação de glutamina sobre o desempenho e o desenvolvimento de vilos e criptas do intestino delgado de frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.5, p.487-490, 2000.
- MAIORKA, A.; BOLELI, I.C.; MACARI, M. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZÁLES, E. (Eds) **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**, Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. 375p.
- MURAKAMI, A.E.; SAKAMOTO, M.I.; NATALI, M.R.M. et al. Supplementation f glutamine and vitamin E on the morphometry of the intestinal mucosa in broiler chickens. **Poultry Science**, v.86, p.488-495, 2007.
- NELSON, D.L.; COX, M.M. **Leningher – Princípios da Bioquímica**. 3ed. São Paulo: Editora Sarvier. 2003. 1119p.
- NEWSHOLME, P. Why is L-glutamine metabolism important to cells of immune system in health, postinjury, surgery or infection? **The Journal of Nutrition**, v.131, p.2515-2522, 2001.
- NEWSHOLME, P.; LIMA, M.M.R.; PROCOPIO, J.T.C. et al. Glutamine and glutamate as vital metabolites. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.36, p.153-163, 2003.
- PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FRACALOSSO, D.M. et al. Nutrição de peixes. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSO, D.M. et al. (Eds) **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. Campo Belo: Tecart, 2004. p.75-170.
- PORTZ, L. Recentes avanços na determinação das exigências e digestibilidade da proteína e aminoácidos em peixes. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2001. p.528-542.
- REEDS, P.J.; BURRIN, D.G. Glutamine and the bowel. **The Journal of Nutrition**, v.131, p-2505S-2508S, 2001.

- REEDS, P.J.; BURRIN, D.G.; JAHOOOR, F. Intestinal glutamate metabolism. **The Journal of Nutrition**, v.130, p.978-982, 2000.
- RENNIE, M.J.; BOWTELL, J.L.; BRUCE, M. et al. Interaction between glutamine availability and metabolism of glycogen, tricarboxylic acid cycle intermediates and glutathione. **The Journal of Nutrition**, p.2488S-2490S, 2001.
- RHODS, J.M.; ARGENZIO, R.A.; CHEN, W. et al. L-glutamine stimulates intestinal cell proliferation and activates mitogen-activated protein kinases. **American Journal Physiology**, v.272, p.949-953, 1997.
- ROTTA, M.A. **Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura**. 1.ed. Corumbá:Embrapa Pantanal, 2003. 48p.
- SÁNCHEZ-MUROS, M.J.; GÁRCIA-REJÓN, L.; GÁRCIA-SALGUERO, L. et al. Long-term nutrition effects on the primary liver and kidney metabolism in rainbow trout. Adaptive response to starvation and high-protein, carbohydrate-free diet on glutamate dehydrogenase and alanine aminotransferase kinetics. **Biochemistry & Cell Biology**, v.30, p.55-63, 1998.
- SMITH, R.J. Glutamine metabolism and its physiologic importance. **Journal Parenteral and Enteral Nutrition**, v.14, p.40S-44S, 1990.
- SOUBA, W.; KLIMBERG, V. The role of glutamine in maintaining a healthily gut and supporting the metabolic response to injury and infection. **Journal Parenteral and Enteral Nutrition**, v.48, p.383-391, 1990
- TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. **An atlas of fish histology – normal and pathological features**. 2.ed Tokyo: Kondansha Ltda, 1995, 195p.
- TAUDOU, G.; WIART, J.; PIAIJEL, J. Influence of amino acid deficiency and tRNA aminoacylation on DNA synthesis and DNA polymerase activity during secondary immune response in vitro. **Molecular Immunology**, v.20, p.255, 1983.
- VAN DER HULST, R. Glutamine and the preservation of gut integrity. **Lancet**, v.341, p.1363-1365, 1993.
- VAN DONGEN, J.M.; VISSER, W.J.; DAEMS, W. et al. The relation cell proliferation and ultrastructural development in rat intestinal epithelium. **Cell Tissue Research**, v.174, p.183-199, 1976.
- WHITNEY, E.; CATALDO, A. **Understanding normal and clinical nutrition**. New Cork:West Publishing Co., 1983. 220p.
- WILMORE, D.; SMITH R. The gut a central organ after surgical stress. **Surgery**, v.104, p.917-923, 1988.
- WU, G. Intestinal mucosal amino acid catabolism. **The Journal of Nutrition**, v.128, p.1249–1252, 1998.
- WU, G.; KNABE, D.A.; YAN, W. et al. Glutamine and glucose metabolism in enterocytes of the neonatal pig. **American Journal Physiology**, v.37, p.R334-R342, 1995.

- YAN, L.; QIU-ZHOU, X. Dietary glutamine supplementation improves structure and function of intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Aquaculture**, v. 256, p. 389-394, 2006.
- YI, G.F., ALLEE, G.L., SPENCER, J.D., FRANK, J.W., GAINES, A.M. Impact of glutamine, menhaden fish meal and spray-dried plasma on the growth and intestinal morphology of turkey poultry. **Poultry Science**, v.80, p. 340-350, 2001.
- YI, G.F.; ALLEE, G.L. [2006] Revisão de literatura: Glutamina (Gln) e Glutamato (Glu). Disponível em: <<http://www.lisina.com.br>>. Acesso em: 28/01/2006.
- YOO, S.S.; FIELD, C.J.; MCBURNEY, M.I. Glutamine supplementation maintains intramuscular glutamine concentrations and normalizes lymphocyte function in infected early weaned pigs. **The Journal of Nutrition**, p.1750-1760, 1997.
- ZAMBONI-FILHO, E. Piscicultura das espécies exóticas de água doce. In: , C.R.; POLI, A.T.B; ANDREATTO, E.R.; BELTRAME, E. (Eds.) **Aqüicultura – Experiências Brasileiras**. Florianópolis:Multitarefa, 2004. p.309-336.
- ZHAO, F.; OKINE, E.K.; CHEESEMAN, C.I. Glucose transport gene expression in lactating bovine gastrointestinal tract. **Animal Science**, v.76, p.2921-2929, 1998.
- ZIMMERMANN, S.; FITZMMONS, K. Tilapicultura intensiva. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALLOSSI, D.M. et al. (Eds) **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. Campo Belo:Tecart, 2004. p.239-265.

## **OBJETIVO GERAL**

Avaliar a utilização de L-glutamina e L-glutamato em dietas para tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por meio do desempenho produtivo, composição da carcaça e morfometria da mucosa intestinal.

## **CAPÍTULO 2**

### **L-Glutamina e L-Glutamato em Dietas para Juvenis de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

## **L-Glutamina e L-Glutamato em Dietas para Juvenis de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

**RESUMO** – Este trabalho foi realizado para avaliar os níveis de L-glutamina e L-glutamato em dietas para juvenis de tilápia do Nilo ( $27,76 \pm 0,76$  g). Os peixes foram distribuídos em gaiolas de  $0,12\text{m}^3$  em um delineamento em blocos casualizados, com quatro tratamentos e quatro repetições com 14 peixes por unidade experimental. Foi utilizada uma dieta controle com 30% de proteína bruta e 2980 kcal de energia digestível/kg, suplementada com AminoGut<sup>®</sup>, fonte de L-glutamina e L-glutamato, na proporção de 0, 1, 2 e 3% na dieta. Os peixes foram alimentados até saciedade aparente durante 47 dias. Foram analisados os parâmetros de desempenho produtivo, composição química da carcaça e altura das vilosidades intestinais. Não foram observados efeitos da suplementação das dietas com L-glutamina e L-glutamato para o desempenho produtivo, composição de carcaça e altura das vilosidades intestinais dos juvenis de tilápia do Nilo.

Palavras-chave: aminoácidos, desempenho, mucosa intestinal, peixe

## **Dietary L-Glutamine and L-Glutamate for Juvenile Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)**

**ABSTRACT** – This work was carried out to evaluate the dietary L-glutamine and L-glutamate for juvenile of Nile tilapia ( $27.76 \pm 0.76$  g). The fish were distributed in cages ( $0.12\text{m}^3$ ) in a randomized block design with four treatments and four replicates with 14 fish per experimental unit. It was used a basal diet with 30% of crude protein and 2,980 kcal/kg of digestible energy, supplemented with AminoGut<sup>®</sup>, source of L-glutamine and L-glutamate, in proportion of 0, 1, 2, 3% of diet. Fish were fed to satiation during 47 days. The analyzed parameters were performance, carcass composition and intestinal villus height. No effects of dietary L-glutamine and L-glutamate supplementation on performance and intestinal villus height for juveniles of Nile tilapia were observed.

Key Words: amino acid, fish, intestinal mucous, performance



## Introdução

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é considerada uma das espécies mais utilizadas para a piscicultura, pelo rápido crescimento, pela facilidade de obtenção de larvas, pela rusticidade e pelo hábito alimentar onívoro, consumindo dieta artificial logo após o início da alimentação exógena. Sua carne possui boas características organolépticas e seu filé não apresenta espinhos intramusculares em “Y” (El-Sayed, 2006).

O conhecimento do sistema digestório dos peixes tem importância na elaboração de dietas que atendam as exigências dos peixes, pois muitas das modificações no sistema digestório estão relacionadas com o hábito alimentar dos mesmos. Em peixes teleósteos a mucosa apresenta inúmeros vilos que se assemelham aos encontrados no intestino delgado de vertebrados, com exceções das criptas, que não estão presentes na mucosa intestinal dos peixes. Devido a ausência das criptas, grupos de células indiferenciadas na base do vilos possuem a função de se dividirem para formar as células epiteliais do vilos (Jobling, 1995). O tamanho e a densidade dos vilos estão relacionados com a perda de células e renovação celular pelo epitélio da mucosa intestinal. O desequilíbrio do processo de renovação celular a favor de um aumento na proliferação tem papel relevante, pois maximiza a digestão e absorção intestinal para maior eficiência alimentar e ganho de peso. Assim, vários componentes da dieta têm sido testados com o objetivo de promover o crescimento da mucosa intestinal (Boleli et al., 2002), dentre esses componentes encontram-se a glutamina e glutamato.

Os aminoácidos dietéticos são os principais combustíveis da mucosa do intestino e são precursores essenciais da síntese intestinal de glutatona, óxido nítrico, poli-aminas, nucleotídeos purina e pirimidina e aminoácidos (alanina, citrulina e prolina). Estes aminoácidos também são obrigatórios para a manutenção da integridade da mucosa intestinal e da massa da mucosa intestinal (Wu, 1998).

A glutamina e o glutamato possuem uma via metabólica comum no enterócito. O glutamato, principalmente o derivado da dieta, pode facilmente substituir a glutamina em diversas funções, incluindo a produção de energia e a síntese de aminoácidos, sendo estes aminoácidos intercambiáveis como importante substrato para o sistema celular da mucosa (Reeds & Burrin, 2001).

A L-glutamina tem sido utilizada em dietas para suínos com resultados positivos sobre a conversão alimentar (Kitt et al, 2001) e aumento na vilosidade (Wu et

al, 1996). O uso da L-glutamina em dietas para peixes, foi demonstrado por Yan & Qiu-Zhou (2006) que a suplementação (1%) em dietas para carpa comum (*Cyprinus carpio* var. Jian) aumentou o desempenho e promoveu desenvolvimento intestinal nos animais, com aumento da altura da vilosidade intestinal. Estes autores também consideraram que a glutamina pode ser usada na dieta para a produção de peixes e na nutrição preventiva contra injúrias no epitélio intestinal.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a utilização de L-glutamina e L-glutamato em dietas para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), por meio do desempenho produtivo, composição da carcaça e morfometria da mucosa intestinal.

### **Material e Métodos**

O experimento foi realizado no Laboratório de Aqüicultura do Núcleo de Pesquisa em Limnologia e Aqüicultura (NUPELIA) da Universidade Estadual de Maringá, durante 47 dias, no período de fevereiro a abril de 2006.

Foram utilizados 224 peixes revertidos sexualmente durante a fase larval, da linhagem tailandesa, com peso vivo médio inicial de  $27,76 \pm 0,76$  g, originados da Piscicultura Araucária Belmonte, Rolândia - PR. Os peixes foram distribuídos em um delineamento em blocos casualizados com quatro tratamentos e quatro repetições, sendo considerado como bloco um tanque de fibrocimento de  $0,8 \text{ m}^3$  com quatro gaiolas com volume útil unitário de  $0,12 \text{ m}^3$  cada e com 14 peixes, em que cada bloco continha uma unidade experimental de cada tratamento. Foi utilizado um sistema de recirculação da água, com renovação contínua de água (7 litros/minuto/tanque) e com biofiltro central, sendo cada tanque coberto com lona preta para reduzir a produção de organismos aquáticos.

Em cada tanque foi instalado um sistema de aeração com difusores acoplados a um soprador radial, mantendo o oxigênio entre 4 a 6 mg/L. A temperatura permaneceu em torno de 24 a 28°C.

Foi utilizada uma dieta controle com 30% de proteína bruta e 2980 kcal de energia digestível (Tabela 1). O AminoGut<sup>®</sup> (mínimos de 10% de L-glutamina e 10% de L-glutamato) foi utilizado com fonte de L-glutamina e L-glutamato e adicionado à dieta controle na proporção de 0, 1, 2 e 3% em substituição ao milho. Os alimentos foram moídos em moinho faca e peneira de 0,5 mm de diâmetro. Em seguida foi

pulverizada água (55°C) na proporção de 12% de seu peso total e, as dietas foram aglomeradas em moinho de carne e desidratadas em estufa de ventilação forçada (55°C), durante um período de 18 horas, sendo utilizados pélets com 3mm de diâmetro.

Cada dieta foi fornecida diariamente quatro vezes/dia, às 8, 12, 16 e 18 horas. O arraçoamento foi manual e fornecido até saciedade aparente.

Tabela 1 – Composição percentual da dieta controle

Ingredientes	%
Quirera de arroz	6,00
Farelo de soja	44,30
Milho	20,80
Farelo de trigo	20,00
Farinha de peixe	5,00
Calcário calcítico	0,33
Fosfato bicálcico	1,40
Óleo de soja	1,00
DL-metionina	0,15
L-treonina	0,10
Suplemento mineral e vitamínico <sup>1</sup>	0,50
Vitamina C <sup>2</sup>	0,05
Sal comum	0,35
BHT <sup>3</sup>	0,02
Aminogut <sup>4</sup>	0,00
Total	100
Matéria seca (%) <sup>5</sup>	92,22
Energia digestível (kcal/kg) <sup>7</sup>	2980
Proteína bruta (%) <sup>5</sup>	30,00
Proteína digestível (%) <sup>5</sup>	26,97
Fibra bruta (%) <sup>5</sup>	3,11
Extrato etéreo (%) <sup>5</sup>	8,91
Cinzas (%)	7,01
Cálcio (%) <sup>5</sup>	1,48
Fósforo total (%) <sup>5</sup>	0,95
Fósforo disponível (%) <sup>6</sup>	0,65
Lisina <sup>8</sup> (%)	1,40
Treonina <sup>8</sup> (%)	1,06
Metionina + cistina <sup>8</sup> (%)	0,92
Metionina <sup>8</sup> (%)	0,51
Glutamato <sup>8</sup> (%)	4,60

<sup>1</sup> Suplemento mineral e vitamínico (Supre Mais): composição por kg: Vit. A = 1200.000 UI; vit. D3 = 200.000 UI; vit. E = 12.000 mg; vit. K3 = 2.400 mg; vit. B1 = 4.800 mg; vit. B2 = 4.800 mg; vit. B6 = 4.000 mg; vit. B12 = 4.800 mg; ác. Fólico = 1.200 mg; pantotenato de Ca = 12.000 mg; vitamina C = 48.000 mg; biotina = 48 mg; colina = 65.000 mg; niacina = 24.000 mg; Fe = 10.000 mg; Cu = 600 mg; Mg = 4.000 mg; Zn = 6.000 mg; I = 20 mg; Co = 2 mg e Se = 20 mg;

<sup>2</sup> Vitamina C: (42% de ácido ascórbico).

<sup>3</sup> Butil Hidroxi Tolueno.

<sup>4</sup> Aminogut®: mínimos de 10% de L-glutamina e 10% de L-glutamato.

<sup>5</sup> Valores obtidos no Lana – UEM, Maringá – PR.

<sup>6</sup> De acordo com Pezzato et al. (2002).

<sup>7</sup> Valor calculado segundo NRC (1993).

<sup>8</sup> Valores determinados no Laboratório da Ajinomoto Biolatina.

As análises químicas das dietas foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos (LANA) do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, seguindo-se metodologia citada por Silva & Queiroz (2002). As análises de aminoácidos foram realizadas pelo Laboratório da Ajinomoto Biolatina em Cromatógrafo a Líquido de Alto Desempenho (HPLC), modelo Shimatzu.

Todos os peixes foram pesados no início e ao final do experimento. No início do experimento 30 peixes foram utilizados para a avaliação da composição química da carcaça. Ao final do experimento os peixes permaneceram em jejum por 24 horas, todos os peixes foram pesados em balança digital (0,01 g), sendo utilizados 11 peixes por unidade experimental para determinação da composição química da carcaça, e 12 peixes por tratamento para a análise histológica. Os peixes foram sacrificados com superdosagem de Eugenol (300 mg/L).

Foi determinado o ganho de peso, consumo e conversão alimentar, sendo que para a determinação do índice hepato-somático, taxa de eficiência protéica e eficiência de retenção de nitrogênio foram utilizadas as expressões descritas por Jauncey & Ross (1982), respectivamente:

$$IHS = \frac{PF}{PV} \cdot 100$$

*Em que:*

*IHS = índice hepato-somático;*

*PF = peso do fígado (g);*

*PV = peso vivo (g).*

$$TEP = \frac{GP}{PC}$$

*Em que:*

*TEP = taxa de eficiência protéica;*

*GP = ganho de peso (g);*

*PC = proteína consumida (g).*

$$ERN = \frac{Nf \cdot Pf - Ni \cdot Pi}{Nc}$$

*Em que:*

*ERN = eficiência de retenção de nitrogênio;*

*Nf = nitrogênio final (%);*

*Pf = peso final (g);*

*Ni = nitrogênio inicial (%);*

*Pi = peso inicial(g);*

*Nc = nitrogênio consumido (g).*

As amostras para a composição química da carcaça foram moídas em moedor de carne após a retirada das vísceras (carcaça isenta de vísceras), até obter-se uma polpa homogênea. Esta polpa foi seca em estufa de ventilação forçada a 55°C por 48 horas e moídas em moinho bola. As análises químicas das amostras de carcaça foram realizadas no LANA, seguindo-se metodologia citada por Silva & Queiroz (2002).

A cada semana foram tomadas as medidas de temperatura (8 e 16 horas) e oxigênio dissolvido (mg/L) da água de cada tanque. Os dados foram obtidos através de "kit" digital portátil.

A morfometria da mucosa intestinal foi realizada no Laboratório de Histotécnica Animal/DCM/UEM sendo, recolhidas porções de aproximadamente 5 cm de comprimento do intestino médio (45 cm abaixo da junção do estômago com o intestino), de 12 peixes por tratamento. As amostras foram colocadas em placa de isopor, abertas longitudinalmente, lavadas com solução salina, fixado em solução de "Bouin" por seis horas, desidratadas em série ascendente de álcool, diafanizadas em xilol, e incluídas em parafina, para a obtenção de cortes histológicos semiseriados. Foram realizados cortes de 7 µm de espessura que foram corados pelo método de hematoxilina-eosina.

A fotodocumentação (captura de imagens) foi realizada no Laboratório de Captura de Imagens DCM/UEM em fotomicroscópio Olympus BX50 em objetiva de 4X, utilizando-se sistema de imagens computadorizado (Image Pro Plus – Versão 5.2-Media Cibernética). A morfometria da mucosa intestinal foi realizada em 25 vilos por animal perfazendo um total de 300 medidas por tratamento onde, foi mensurada a altura dos vilos.

Os dados foram submetidos às análises de variância e regressão polinomial por meio do programa SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas) da UFV (1982).

## **Resultados e discussão**

Não foi observada mortalidade durante o período experimental. Os níveis crescentes de L-glutamina e L-glutamato das dietas não influenciaram ( $P>0,05$ ) os parâmetros de desempenho produtivo (Tabela 2). Maiorka et al. (2000) e Murakami et al. (2007), também não observaram melhora no desempenho de frangos de corte alimentados com 1% de L-glutamina. Yan & Qiu-Zhou (2006) em estudos realizados

com juvenis de carpa comum encontraram resultados que diferiram dos obtidos no presente estudo, os juvenis de carpa comum apresentaram melhora no desempenho das carpas alimentados com 1,2% de L-glutamina na dieta. O mesmo foi observado por Yi et al. (2001), em estudos com perus e House et al. (1994), com suínos.

A melhora no desempenho dos animais suplementados com L-glutamina e L-glutamato podem ocorrer devido a glutamina ser um aminoácido precursor de outros aminoácidos, nucleotídeos e açúcares aminados (Newsholme, 2001), atuando como regulador de demandas metabólicas, aumentando a síntese protéica do músculo esquelético e estimulando a síntese de glicogênio no fígado (Smith, 1990; Haussinger et al., 1994). A suplementação de L-glutamina e L-glutamato na dieta provavelmente podem levar ao aumento na retenção de nitrogênio pelos animais, pois possui papel vital no metabolismo do nitrogênio.

Tabela 2 – Desempenho dos juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de L-glutamina e L-glutamato

Variável	L-glutamina e L-glutamato (%)				CV*
	0	1	2	3	
Peso inicial (g)	28,31	27,57	28,40	26,78	7,42
Ganho de peso (g)	67,39	69,34	67,81	68,35	8,71
Consumo (g/peixe)	82,56	81,83	77,50	80,98	11,29
Conversão alimentar	1,22	1,18	1,15	1,19	7,96
Taxa de eficiência protéica	2,79	2,86	2,95	2,85	6,50
Eficiência de retenção de nitrogênio	41,48	42,22	41,72	41,21	6,03
Índice hepato-somático	1,89	1,77	1,76	1,94	15,86

\*Coeficiente de variação

Nesse estudo, não foi observado melhora no desempenho dos animais com a suplementação de L-glutamina e L-glutamato, que pode ter ocorrido devido ao perfil de aminoácidos da dieta ser de alta qualidade, e que os parâmetros de desempenho nem sempre são satisfatórios para determinar os níveis de suplementação de L-glutamina na dieta (House et al, 1994). Muitos estudos mostram a melhora no desempenho de animais que receberam suplementação com L-glutamina na dieta devido a esta possuir função de transportadora de nitrogênio, pois seus aminos grupos se agrupam com um  $\alpha$ -amino e um grupo amido, e este duplo enlace permite a glutamina transportar nitrogênio para vários órgãos, promovendo assim a síntese de purinas e pirimidinas e alguns aminoácidos (Newsholme et al. 2001).

Não foi observado efeito ( $P>0,05$ ) para os teores de água, proteína bruta, extrato etéreo e cinzas na carcaça dos peixes alimentados sem e com inclusão de níveis crescentes de L-glutamina e L-glutamato (Tabela 3).

Tabela 3 – Valores de composição química da carcaça de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de L-glutamina e L-glutamato

Variável (%)	L-glutamina e L-glutamato (%)				CV*
	0	1	2	3	
Água	73,51	74,15	73,74	75,66	1,35
Proteína bruta	16,65	16,05	16,66	15,67	4,02
Extrato etéreo	6,84	6,64	6,38	5,99	11,53
Cinzas	2,78	2,68	2,91	2,64	4,37

\* Coeficiente de variação

Os resultados obtidos neste estudo concordam com House et al. (1994) que também não observou variação do teor de proteína, lipídeos e cinzas na carcaça em trabalhos com suínos. A suplementação com L-glutamina fundamenta-se no aumento da síntese protéica, por ser substrato para a gliconeogênese, participado da ressíntese de glicogênio, síntese de neurotransmissores e diminuindo a acidose metabólica (Fontana et al., 2003).

Com relação aos aspectos morfológicos da parede do segmento médio intestinal de juvenis de tilápia do Nilo, verificamos a organização da mesma em túnicas intestinais (mucosa, submucosa, muscular e serosa), independente do nível de inclusão. A mucosa intestinal apresentou vilosidades de aspecto foliáceo e irregulares quanto a sua altura, sendo revestidas por epitélio simples cilíndrico com células caliciformes. Não foi observada a presença de criptas intestinais. Estas características são descritas para peixes teleosteos em geral (Takashima & Hibiya, 1995) e especificamente para tilápias (Gargiulo et al., 1998).

As análises morfométricas das vilosidades revelaram ausência de efeito trófico da suplementação de L-glutamina e L-glutamato ( $P>0,05$ ) para a altura dos vilos, sendo observado valores de 389,63; 343,43; 360,08 e 372,41  $\mu\text{m}$  com a inclusão de níveis de 0, 1, 2 e 3% de L-glutamina e L-glutamato, respectivamente.

Kitt et al. (2001) também não observaram diferenças na altura das vilosidades dos suínos alimentados com 1% de L-glutamina, porém Wu et al. (1996) em estudos com suínos em fase de desmame que receberam dietas com a inclusão de 1% de L-glutamina apresentaram aumento da altura das vilosidades intestinais. Para juvenis de



carpa comum a suplementação de 1,2% de L-glutamina aumentou a altura das vilosidades intestinais (Yan & Qiu-Zhou, 2006). Para aves a suplementação de 1% de L-glutamina na dieta também resultou em aumento das vilosidades intestinais dos frangos de corte (Maiorka et al., 2000; Murakami et al., 2007).

A ausência de resposta na altura e largura das vilosidades, a qual poderia indicar alterações funcionais na capacidade absorptiva da mesma, corroborada com o fato desta não apresentarem alterações na organização morfológica da parede e no ganho de peso, podendo ser justificada pela falta de desafio nas condições experimentais. A L-glutamina e L-glutamato são importantes fontes de energia e na proliferação das células intestinais (Souba et al., 1985) e linfócitos intraepiteliais (Wu et al., 1996), evitando a atrofia da mucosa com aumento de sua permeabilidade e crescimento bacteriano (Wilmore & Smith, 1998). Durante o estado de estresse, há uma maior demanda por glutamina excedendo a quantidade liberada pelo corpo, havendo redução de suas reservas corporais. Com estresse prolongado, há um aumento na proteólise do músculo esquelético e envio de aminoácidos para as vísceras, e com a redução da glutamina plasmática, a mucosa intestinal começa atrofiar (Wilmore & Smith, 1988).

Também devemos considerar que os melhores resultados obtidos com a adição destes aminoácidos são com animais jovens, principalmente em suínos durante o período de desmame. Assim, é possível que os melhores resultados com a adição desses aminoácidos possam ser obtidos com peixes durante a fase inicial de criação.

### **Conclusão**

Os níveis testados de L-glutamina e L-glutamato não influenciaram o desempenho produtivo, composição química da carcaça e altura das vilosidades intestinais, não possuindo efeito trófico na mucosa intestinal.

### **Literatura Citada**

- BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZÁLES, E. P. (Ed.) **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**, Jaboticabal:FUNEP/UNESP, 2002. p.75-96.
- EL-SAYED, A.M. **Tilapia culture**. London:Cabi. 2006. 277p.
- FONTANA, K.E.; VALDES, H.; BALDISSERA, V. Glutamina como suplemento ergogênico. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v.11, n.3, p.91-96, 2003.

- FURUYA, W.M.; PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C. et al. Coeficientes de digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alguns ingredientes pela tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.) (Linhagem Tailandesa). **Acta Scientiarum**, v.23, p.465-469, 2001.
- GARGIULO, A.M.; CECCARELLI, P.; DALL'AGLIO, C. et al. Histology and ultrastructure of the gut of the tilapia (*Tilapia* spp.), a hybrid teleost. **Anatomic Histology and Embryology**, v.27, p.89-94, 1998.
- HAUSSINGER, D.; LANG, F.; GEROK, W. Regulation of cell function by cellular hydration state. **American Journal Physiology**, v.267, p.E343-E355, 1994.
- HOUSE, J.D.; PENCHARZ, P.B.; BALL, R.O. Glutamine supplementation to total parenteral nutrition promotes extracellular fluid expansion in piglets. **The Journal of Nutrition**, v.131, p.396-404, 1994.
- JAUNCEY, K.; ROSS, B. **A guide to tilapia feed and feeding**. Scotland: University of Stirling, 1982. 111p.
- JOBLING, M. **Environmental Biology of fishes. Fish and Fisheries Series 16**. 1995 455p.
- KITT, S.J.; MILLER, P.S.; LEWIS, A.J. et al. Effects diet and crystalline glutamine supplementations of growth performance and small intestine morphology of weanling pigs. **Journal Animal Science**, v.79, p.10, 2001.
- MAIORKA, A.; SILVA, A.V.F.; SANTIN, E. et al. Influência da suplementação de glutamina sobre o desempenho e o desenvolvimento de vilos e criptas do intestino delgado de frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.5, p.487-490, 2000.
- MURAKAMI, A.E.; SAKAMOTO, M.I.; NATALI, M.R.M. et al. Supplementation of glutamine and vitamin E on the morphometry of the intestinal mucosa in broiler chickens. **Poultry Science**, v.86, p.488-495, 2007.
- NEWSHOLME P. Why is L-glutamine metabolism important to cells of immune system in health, postinjury, surgery or infection? **The Journal of Nutrition**, v.131, p.2515-2522, 2001.
- NRC. 1993. **National Research Council – Nutritional Requirements of fishes**. Washington:Academic Press. 114p.
- PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; PEZZATO, A.C. et al. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1595-1604, 2002.
- REEDS, P.J.; BURRIN, D.G. Glutamine and the bowel. **The Journal of Nutrition**, v.131, p.2505S-2508S, 2001.
- RHODS, J.M.; ARGENZIO, R.A.; CHEN, W. et al. L-glutamine stimulates intestinal cell proliferation and activates mitogen-activated protein kinases. **American Journal Physiology**, v.272, p.949-953, 1997.
- SILVA, S.S.; QUEIROZ, S. **Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 2.ed., Imprensa Universitária: Viçosa, 2002. 235p.
- SMITH, R.J. Glutamine metabolism and its physiologic importance. **Journal Parenteral and Enteral Nutrition**, v.14, p.40S-44S, 1990.

- SOUBA, W.W.; SMITH, R.J.; WILMORE, D.W. Glutamine metabolism by the intestinal tract. **Journal Parenteral and Enteral Nutrition**, v.9, p.608–61, 1985.
- TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. **An atlas of fish histology – normal and pathological features**. 2.ed. Tokyo: Kondansha Ltda, 1995, 195p.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **Sistema de análises estatísticas e genéticas – SAEG**. Versão 6.0. Viçosa, MG, 1982. 52p.
- WILMORE, D.; SMITH R. The gut a central organ after surgical stress. **Surgery**, v.104, p.917-923, 1988.
- WU, G. Effects of concanavalin A and phorbol myristate acetate on glutamine metabolism and proliferation of porcine intraepithelial lymphocytes. **Biochemistry Physiology**, v.114a, p.363-368, 1996.
- WU, G. Intestinal mucosal amino acid catabolism. **The Journal of Nutrition**. v.128, p.1249–1252, 1998.
- WU, G.; MEIER, S.A.; KNABE, D.A. Dietary glutamine supplementation prevents jejunal atrophy in weaned pigs. **The Journal of Nutrition**, v.126, p.2578–2585, 1996.
- YAN, L.; QIU-ZHOU, X. Dietary glutamine supplementation improves structure and function of intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Aquaculture**, v.256, p.389-394, 2006.
- YI, G.F.; ALLEE, H.J.; LIU, J.W. et al. Apparent ileal digestibility of amino acids in soybean meal, menhaden fish meal, catfish meal and spray-dried plasma in young broilers. **Poultry Science**, v.80, p. 283-293, 2001.
- YOO, S.S.; FIELD, C.J.; MCBURNEY, M.I. Glutamine supplementation maintains intramuscular glutamine concentrations and normalizes lymphocyte function in infected early weaned pigs. **The Journal of Nutrition**, v.128, p.1750-1760, 1997.

## **CAPÍTULO 3**

### **L-Glutamina e L-Glutamato em Dietas para Alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

## **L-Glutamina e L-Glutamato em Dietas para Alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

**RESUMO** – Este estudo foi realizado para avaliar níveis de L-glutamina e L-glutamato em dietas para alevinos de tilápia do Nilo ( $0,60 \pm 0,1$  g). Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e três repetições e 90 peixes por unidade experimental. Foi utilizada dieta controle com 33% de proteína bruta e 2940 kcal/kg de energia digestível, suplementada com Aminogut<sup>®</sup>, fonte de L-glutamina e L-glutamato, na proporção de 0, 1, 2 e 3% da dieta, durante 85 dias. Não foi observado efeito da L-glutamina e L-glutamato sobre o consumo, conversão alimentar, taxa de eficiência protéica, eficiência de retenção de nitrogênio, índice hepato somático, composição química corporal e amônia e uréia sanguíneas. Foi observado aumento linear sobre o ganho de peso com aumento nos níveis de L-glutamina e L-glutamato nas dietas. Foi observado efeito quadrático dos níveis de L-glutamina e L-glutamato na altura dos vilos. A adição de L-glutamina e L-glutamato melhorou o ganho de peso e a altura das vilosidades intestinais de alevinos de tilápia do Nilo.

Palavras-Chave: aminoácido, histologia, mucosa intestinal, peixe

## **Dietary L-Glutamine and L-Glutamate for Fingerling of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)**

**ABSTRACT** – This work was carried out to evaluate the dietary L-glutamine and L-glutamate for fingerling Nile tilapia ( $0.60 \pm 0.1$  g). A complete randomized experimental design with four treatments, three replicates and 90 fish per experimental unit was used. It was used a basal diet with 33% of crude protein and 2,940 kcal/kg of digestible energy, supplemented with AminoGut<sup>®</sup>, source of L-glutamine and L-glutamate, with 0, 1, 2 and 3% of diet, during 85 days. Feed intake, feed:gain ratio, protein efficiency ratio, nitrogen retention, hepatic somatic index, body composition and blood ammonia and urea were not influenced by dietary L-glutamine and L-glutamate. It was observed a linear increase of dietary L-glutamine and L-glutamate levels on weight gain. A quadratic effect of L-glutamine and L-glutamate levels on villus height was observed. The addition of L-glutamine and L-glutamate increase the weight gain and intestinal villus height of Nile tilapia fingerlings.

Key Words: amino acid, fish, intestinal mucous, histology

## Introdução

A produção mundial de tilápias aumenta a cada ano, o que não tem ocorrido com a produção de peixes capturados, melhorando a perspectiva de produção de peixes em cativeiro para atender os mercados interno e externo. A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é considerada uma das espécies mais indicadas para a criação intensiva, pela elevada taxa de crescimento adaptabilidade a mudanças no ambiente e habilidade no crescimento e reprodução (El-Sayed, 2006). Além disso, apresenta facilidade de obtenção de larvas, rusticidade, possui carne com boas características organolépticas e seu filé não apresenta espinhos intramusculares em “Y”.

A mucosa intestinal de peixes teleósteos apresenta inúmeras projeções denominadas de vilos, não apresentando criptas na base do vilo que possuem células indiferenciadas que sofrem sucessivas mitoses para formação das células epiteliais do vilo (Jobling, 1995). As vilosidades presentes na mucosa intestinal dos peixes são semelhantes às encontradas no intestino delgado de vertebrados.

O conhecimento da mucosa intestinal dos peixes é importante para fornecer informações para os estudos de nutrição, de forma a atender as exigências nutricionais para adequado desempenho e saúde dos peixes.

A glutamina e o glutamato são aminoácidos abundantes na circulação e no espaço intracelular e são precursores da síntese de aminoácidos, nucleotídeos, ácidos açúcares aminados, proteínas e outras moléculas biologicamente importantes (Smith, 1990). Também possuem grande importância no transporte de nitrogênio para vários órgãos, disponibilizam nitrogênio para a gliconeogênese hepática, para a síntese de uréia e amônia intraluminal que ajuda no transporte de sódio e água e são precursores de glutathione (Newsholme et al., 2003).

O glutamato e a glutamina possuem uma via metabólica comum no enterócito, pois a glutamina é metabolizada em glutamato mais amônia pela glutaminase e a degradação do glutamato via transaminação. Dessa forma o glutamato pode substituir a glutamina em diversos de seus papéis metabólicos como geração de energia e síntese de aminoácidos Wu et al. (1995).

O uso de L-glutamina na dieta de suínos e aves tem sido utilizado com resultados positivos em seu desempenho, prevenindo a atrofia das vilosidades do jejuno de leitões que receberam 1% de L-glutamina na dieta (Wu et al., 1996), melhorando a eficiência alimentar (Kitt et al., 2001), aumentando o ganho de peso, peso do intestino

delgado e crescimento dos órgãos viscerais em leitões desmamados (Lackeyram, 2001) e melhorando o desenvolvimento da mucosa intestinal de frangos de corte (Murakami et al., 2007).

Em dietas para a carpa comum (*Cyprinus carpio* var. Jian), Yan & Qiu-Zhou (2006) observaram que a adição de 1% de L-glutamina melhorou eficiência alimentar, ganho de peso, taxa de eficiência protéica e promoveu aumento da altura das vilosidades intestinais dos peixes. O conhecimento mais aprofundado sobre a fisiologia dos peixes aumenta as possibilidades para a otimização das tecnologias utilizadas na produção de peixes (Takashima & Hibiya, 1995).

O objetivo deste estudo foi avaliar a utilização de L-glutamina e L-glutamato em dietas para alevinos de tilápia do Nilo por meio do desempenho produtivo, composição química corporal, morfometria da mucosa intestinal e amônia e uréia sanguínea.

## **Material e Métodos**

O experimento foi realizado no Laboratório de Aqüicultura do Núcleo de Pesquisa em Limnologia e Aqüicultura (NUPELIA) da Universidade Estadual de Maringá durante 85 dias, período de janeiro a abril de 2007.

Foram utilizados 1080 peixes revertidos durante a fase larval, da linhagem tailandesa, com peso vivo médio inicial de  $0,60 \pm 0,01$  g, originados da Piscicultura Araucária Belmonte, Rolândia - PR. Os peixes foram distribuídos em 12 tanques de cimento amianto com volume útil unitário de  $0,8 \text{ m}^3$  cada, totalizando 90 peixes em cada tanque, em um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e três repetições, em sistema de recirculação da água, com renovação contínua de água (7 litros/minuto/tanque) e com biofiltro central, sendo cada tanque coberto com lona preta para reduzir a produção primária.

Em cada tanque foi instalado um sistema de aeração com difusores acoplados a um soprador central, mantendo o oxigênio entre 4 a 6 mg/L. A temperatura permaneceu em torno de 27 a 30°C.

As dietas foram elaboradas tendo como fonte principal de proteína o farelo de soja, formuladas com base nos valores de aminoácidos digestíveis determinados para a tilápia do Nilo (Furuya et al., 2001). O AminoGut<sup>®</sup> (mínimos de 10% de L-glutamina



e 10% de L-glutamato) foi utilizado com fonte de L-glutamina e L-glutamato e adicionado à dieta controle na proporção de 0, 1, 2 e 3% em substituição ao milho. Todos os alimentos foram moídos em moinho faca e peneira de 0,5 mm de diâmetro. Em seguida foi pulverizada água (55°C) na proporção de 12% de seu peso total e, as dietas foram aglomeradas em moinho de carne e desidratadas em estufa de ventilação forçada (55°C), durante um período de 18 horas. As dietas foram desintegradas, selecionando os grânulos com diâmetro de 0,8 mm (1° ao 14° dia), 1,18 mm (15° ao 32° dia), 2 mm (33° ao 41° dia) e 3 mm até o final do experimento.

Cada dieta foi fornecida diariamente quatro vezes/dia, às 8, 12, 16 e 18 horas. O arraçoamento foi manual e fornecido até saciedade aparente, quando não foi observado regurgitação dos grânulos.

Tabela 1 – Composição percentual da dieta controle

Ingredientes	(%)
Quirera de arroz	16,70
Farelo de soja	35,00
Milho	5,00
Farelo de trigo	10,00
Glúten de milho	6,00
Farinha de peixe	15,00
Fosfato bicálcico	1,00
Óleo de soja	5,00
Levedura desidratada	3,00
Hidrolisado protéico	2,00
DL-metionina	0,18
L-lisina HCL	0,10
Suplemento mineral e vitamínico <sup>1</sup>	0,50
Vitamina C <sup>2</sup>	0,10
Sal comum	0,30
Antifúngico <sup>3</sup>	0,10
BHT <sup>4</sup>	0,02
AminoGut <sup>5</sup>	0,00
Total	100
Matéria seca (%) <sup>6</sup>	92,00
Energia digestível (kcal/kg) <sup>8</sup>	2937,16
Proteína bruta (%) <sup>6</sup>	32,70
Proteína digestível (%) <sup>6</sup>	29,43
Fibra bruta (%) <sup>6</sup>	3,37
Extrato etéreo (%) <sup>6</sup>	6,17
Cinzas <sup>6</sup> (%)	7,56
Cálcio (%) <sup>6</sup>	0,93
Fósforo total <sup>6</sup> (%)	0,93
Fósforo disponível (%) <sup>7</sup>	0,43
Lisina <sup>9</sup> (%)	1,80
Treonina <sup>9</sup> (%)	1,38
Metionina + cistina <sup>9</sup> (%)	1,37
Metionina <sup>9</sup> (%)	0,87
Glutamato <sup>9</sup> (%)	5,87

<sup>1</sup> Suplemento mineral e vitamínico (Supre Mais): composição por kg: Vit. A = 1200.000 UI; vit. D3 = 200.000 UI; vit. E = 12.000 mg; vit. K3 = 2.400 mg; vit. B1 = 4.800 mg; vit. B2 = 4.800 mg; vit. B6 = 4.000 mg; vit. B12 = 4.800 mg; ác. Fólico = 1.200 mg; pantotenato de Ca = 12.000 mg; vitamina C = 48.000 mg; biotina = 48 mg; colina = 65.000 mg; niacina = 24.000 mg; Fe = 10.000 mg; Cu = 600 mg; Mg = 4.000 mg; Zn = 6.000 mg; I = 20 mg; Co = 2 mg e Se = 20 mg;

<sup>2</sup> Vitamina C: (42% de ácido ascórbico).

<sup>3</sup> Propionato de Cálcio.

<sup>4</sup> Butil Hidroxi Tolueno.

<sup>5</sup> Aminogut<sup>®</sup>: mínimos de 10% de L-glutamina e 10% de L-glutamato.

<sup>6</sup> Valores determinados no Lana – Universidade Estadual de Maringá.

<sup>7</sup> De acordo com Pezzato et al. (2002).

<sup>8</sup> Valores calculados segundo o NRC (1993).

<sup>9</sup> Valores determinados no Laboratório da Ajinomoto Biolatina.

As análises químicas das dietas foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá (LANA), seguindo-se metodologia citada por Silva & Queiroz (2002). As análises de aminoácidos foram realizadas pelo Laboratório da Ajinomoto Biolatina através do método de Cromatógrafo a Líquido de Alto Desempenho (HPLC), modelo Shimatzu.

Após a pesagem e distribuição dos animais em cada unidade experimental, 30 peixes originados do mesmo lote dos peixes utilizados para a montagem do experimento foram coletados para a determinação da composição química da carcaça inicial. Ao final do experimento foi realizada a pesagem de todos os peixes em balança digital (0,01 g), sendo utilizados 30 peixes por repetição para determinação do rendimento e composição química da carcaça e nove peixes por tratamento para a análise histológica. Os peixes foram sacrificados com superdosagem de Eugenol (300 mg/L de água).

Foi determinado o ganho de peso, consumo e conversão alimentar, sendo que para a determinação do índice hepato-somático, taxa de eficiência protéica e eficiência de retenção de nitrogênio foram utilizadas as expressões descritas por Jauncey & Ross (1982), respectivamente:

$$IHS = \frac{PF}{PV} \cdot 100$$

*Em que:*

*IHS = índice hepato-somático;*

*PF = peso do fígado (g);*

*PV = peso vivo (g).*

$$TEP = \frac{GP}{PC}$$

*Em que:*

*TEP = taxa de eficiência protéica;*

*GP = ganho de peso (g);*

*PC = proteína consumida (g).*

$$ERN = \frac{Nf \cdot Pf - Ni \cdot Pi}{Nc}$$

*Em que:*

*ERN = eficiência de retenção de nitrogênio;*

*Nf = nitrogênio final (%);*

*Pf = peso final (g);*

*Ni = nitrogênio inicial (%);*

*Pi = peso inicial (g);*

*Nc = nitrogênio consumido (g).*

As amostras para a composição corporal dos peixes (peixe inteiro) foram moídas em moedor de carne, até obter-se uma polpa homogênea. Esta polpa foi seca em estufa de ventilação forçada a 55° C por 48 horas e moídas em moinho bola. As análises químicas da carcaça foram realizadas no LANA, seguindo-se metodologia citada por Silva & Queiroz (2002).

A cada semana foram tomadas as medidas de temperatura (8 e 16 horas) e oxigênio dissolvido (mg/L) da água de cada tanque. Os dados foram obtidos através de "kit" digital portátil.

Para as análises hematológicas foram utilizados nove peixes por tratamento, os peixes foram anestesiados com Eugenol (60 mg/ml), o sangue foi retirado com seringa sem EDTA e colocadas em tubo de ensaio com EDTA (10%). Esses tubos foram agitados manualmente e armazenados em geladeira (4° C) até posterior análise. As análises de amônia e uréia sanguínea foram realizadas no Laboratório Veterinário de Análise Clínicas, Citologia e Anatomia Patológica Santo Antônio<sup>®</sup>, Maringá, Paraná. Para as análises foi utilizado plasma centrifugado a 2500 rpm por oito minutos, a análise de uréia foi realizada com o Teste UV Enzimático Uréase-GLDH e para amônia foi utilizado o plasma com EDTA congelado que foi analisado pelo aparelho Selectra XL.

Para a morfometria da mucosa intestinal foi realizada no Laboratório de Histotécnica Animal/DCM/UEM foram recolhidas porções de aproximadamente 5 cm de comprimento do intestino médio (45 cm abaixo da junção do estômago com o intestino), de doze peixes por tratamento. As amostras foram colocadas em placa de isopor, abertas longitudinalmente, lavadas com solução salina, fixado em solução de "Bouin" por 6 horas, desidratadas em série ascendente de álcool, diafanizadas em xilol, e incluídas em parafina, para a obtenção de cortes histológicos semiseriados. Foram realizados cortes de 7 µm de espessura que foram corados pelo método de hematoxilina-eosina. A fotodocumentação (captura de imagens) foi realizada no Laboratório de Captura de Imagens DCM/UEM em fotomicroscópio Olympus BX50 em objetiva de 4X, utilizando-se sistema de imagens computadorizado (Image Pro Plus – Versão 5.2-Media Cibernética). A morfometria da mucosa intestinal foi realizada em 25 vilos por animal perfazendo um total de 225 medidas por tratamento sendo, mensurada a altura dos vilos.

Os dados foram submetidos às análises de variância e regressão polinomial por meio do programa SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas) da UFV (1982).

## Resultados e discussão

Não foi observada mortalidade decorrente da influência da suplementação de L-glutamina e L-glutamato durante o período experimental. Os teores crescentes de L-glutamina e L-glutamato nas dietas não influenciaram ( $P>0,05$ ) o consumo, conversão alimentar, taxa de eficiência proteína, eficiência de retenção de nitrogênio, índice hepato-somático e rendimento de carcaça (Tabela 2). Estes resultados discordam de Wu et al. (1996) em estudos com suínos que encontraram melhora na conversão alimentar de leitões desmamados alimentados com 1% de L-glutamina.

Tabela 2 – Desempenho de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de L-glutamina e L-glutamato

Variável	L-glutamina e L-glutamato (%)				CV <sup>1</sup>
	0	1	2	3	
Peso inicial (g)	0,61	0,60	0,60	0,61	1,69
Ganho de peso <sup>2</sup> (g)	61,22	62,19	61,58	66,01	3,21
Consumo (g/peixe)	63,95	64,36	64,76	65,57	5,20
Conversão alimentar	1,05	1,04	1,05	0,99	6,66
Taxa de eficiência protéica	2,95	2,97	2,94	3,10	6,64
Eficiência de retenção de nitrogênio	30,67	32,40	30,10	34,46	6,22
Índice hepato-somático	2,29	2,22	1,98	2,18	8,03

<sup>1</sup> Coeficiente de variação

<sup>2</sup> Efeito linear ( $P<0,05$ ): Ganho de peso ( $Y = 60,6902 + 1,3743X$ ;  $R^2=0,75$ ).

Com aumento da suplementação de L-glutamina e L-glutamato foi observado aumento linear ( $P<0,05$ ) para o ganho de peso (Tabela 2). Estes resultados corroboram com Yan & Qiu-Zhou (2006) que também observaram aumento no ganho de peso com a suplementação de 1,2% de L-glutamina nas dietas de carpa comum, Lackeyram (2001) com leitões suplementados com 0,8% de L-glutamina na dieta. Já Murakami et al. (2007) não encontraram aumento no ganho de peso de frangos de corte alimentados com 1% de L-glutamina.

O aumento do ganho de peso pode ter ocorrido devido a maior síntese protéica pelos animais que receberam suplementação de L-glutamina e L-glutamato na dieta. A glutamina e o glutamato são aminoácidos intercambiáveis como substrato para o sistema celular, tendo função de serem precursores da síntese de aminoácidos, nucleotídeos, açúcares aminados, proteínas e outras moléculas biologicamente importantes (Smith, 1990), fornecendo nitrogênio através deste duplo enlace para a síntese de purina e pirimidina, síntese de aminoácidos e síntese de uréia a partir da amônia intraluminal para auxiliar no transporte de sódio e cloro e atuando na síntese

muscular (Forte et al., 2003). A L-glutamina e o L-glutamato são aproveitados pelos animais como fonte de nitrogênio para promover a síntese de aminoácidos não essenciais, para deposição de proteína, aumentando o ganho de peso e favorecendo o crescimento dos animais (Newsholme et al., 2003).

Não foram observadas diferenças ( $P>0,05$ ) na composição química corporal (Tabela 3) de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de L-glutamina e L-glutamato. A glutamina tem função importante na composição do músculo esquelético, pois atua no transporte de nitrogênio nos tecidos, regulando a proteína e a formação de aminoácidos para a síntese muscular (Forte et al., 2003). A ausência de diferenças na composição corporal dos animais pode ter ocorrido devido, a glutamina exógena apresentar maiores efeitos em situações de estresse como infecções, queimaduras (Ribeiro et al., 2004).

Tabela 3 – Valores de composição química corporal de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de L-glutamina e L-glutamato

Variável (%)	L-glutamina e L-glutamato (%)				CV*
	0	1	2	3	
Água	72,11	71,61	72,61	71,45	1,22
Proteína bruta	15,15	15,04	15,01	16,11	4,03
Extrato etéreo	8,25	8,61	8,28	8,38	3,83
Cinzas	3,68	3,68	3,10	3,51	8,65

\*Coeficiente de variação

Os teores crescentes de L-glutamina e L-glutamato não influenciaram ( $P>0,05$ ) os parâmetros sanguíneos de amônia e uréia (Tabela 4). Este resultado discorda de Flynn & Wu (1997), que ao suplementarem glutamina na dieta de leitões lactentes encontraram aumento da amônia sanguínea dos animais.

Tabela 4 - Parâmetros sanguíneos de alevinos de tilápias do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de L-glutamina e L-glutamato

Variável	L-glutamina e L-glutamato (%)				CV*
	0	1	2	3	
Amônia sanguínea	1,23	1,13	1,32	1,18	12,87
Uréia sanguínea	5,00	4,67	4,67	5,00	8,37

\*Coeficiente de variação

Em peixes, a amônia é excretada para a água a partir do metabolismo dos aminoácidos (Ludstedt, 2003) e representa de 70 a 80% da excreção de nitrogênio pelos

peixes, com 5 a 15% excretado como uréia (Halver & Hardy, 2002). A glutamina é um grande transportador de nitrogênio no corpo, é convertida a glutamato e amônia pela glutaminase (Souba & Klimberg, 1990).

Verificamos que os aspectos da parede do segmento médio do intestino de alevinos de tilápia do Nilo, independentes do nível de inclusão de L-glutamina e L-glutamato apresentam organização em túnicas intestinais (mucosa, submucosa, muscular e serosa). E que a túnica mucosa apresentou vilos de aspecto foliáceo e irregulares quanto a sua altura, estes vilos são revestidos com epitélio simples cilíndrico com células caliciformes evidentes, não sendo observada a presença de criptas na túnica mucosa (Figura 1). Características estas descritas para teleósteos por Takashima & Hibiya (1995) e para tilápias por Gargiulo et al. (1998).



Figura 1 – Fotomicrografia do segmento médio do intestino de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com 0,4% de L-glutamina e L-glutamato destacando as vilosidades (V), epitélio da mucosa (M), túnica submucosa (SM), túnica muscular (MC), túnica serosa (S) e célula caliciforme (C). Coloração HE. Barra = 200  $\mu$ m.



As análises morfométricas das vilosidades revelaram efeito quadrático da suplementação de L-glutamina e L-glutamato ( $P>0,05$ ) para a altura dos vilos (Figura 2), sendo observado valores de 388,03; 406,88; 411,94 e 395,94  $\mu\text{m}$  com a inclusão de níveis de 0, 1, 2 e 3% de L-glutamina e L-glutamato, respectivamente. Yan & Qiu-Zhou (2006) com carpa comum, Maiorka et al. (2000) e Murakami et al. (2007) com frangos de corte e Wu et al. (1996) com suínos também observaram aumento dos vilos intestinais com a suplementação de L-glutamina na dieta.

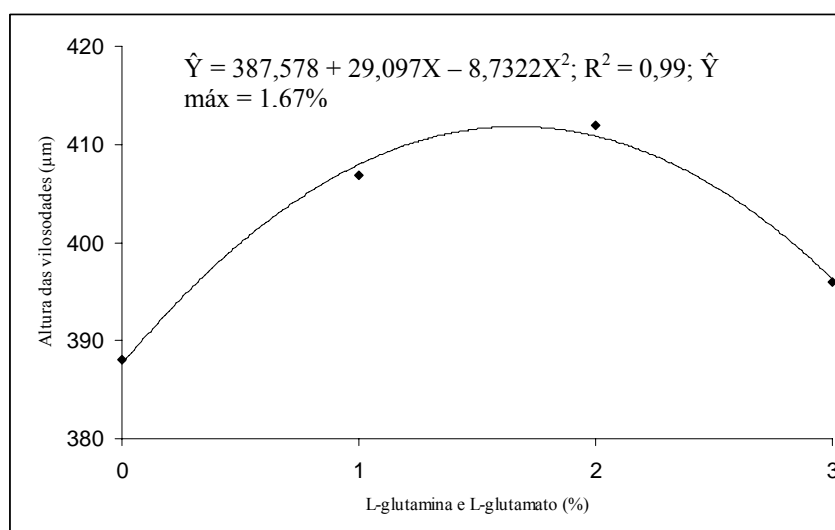


Figura 2 – Altura das vilosidades intestinais de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de L-glutamina e L-glutamato

O aumento da altura das vilosidades intestinais ocorreu devido, a glutamina ser importante fonte de energia para os enterócitos, fornecendo nitrogênio para a biossíntese de nucleotídeos para a replicação celular das células da mucosa do intestino (Yan & Qiu-Zhou, 2006). Este efeito trófico relaciona-se com a perda e renovação celular do epitélio da mucosa intestinal, pois, a glutamina e o glutamato agem na renovação celular através do aumento das mitoses na base do vilos que levam a uma maior proliferação das células do epitélio da mucosa intestinal e dessa forma, aumentando a altura das vilosidades, maximizando a digestão e absorção intestinal e melhorando o desempenho dos animais (Boleli et al., 2002). Em casos de estresse a exigência desses aminoácidos aumentam, pois, são necessários para a manutenção da estrutura e função da mucosa (Yi & Allee, 2006).

A suplementação de L-glutamina e L-glutamato parecem ser mais positivas em peixes jovens, sobre o ganho de peso, que pode estar relacionado com a altura das

vilosidades intestinais. É possível que em função da utilização desses aminoácidos para síntese de aminoácidos essenciais e não-essenciais, a adição de L-glutamina e L-glutamato possam contribuir sobre o desempenho em animais jovens e alimentados com dietas com menores níveis protéicos.

### Conclusão

A adição de L-glutamina e L-glutamato melhora o ganho de peso e altura das vilosidades intestinais de alevinos de tilápia do Nilo, sendo que a inclusão de 1,67% é adequada para promover o desenvolvimento da mucosa intestinal.

### Literatura Citada

- ALVERDY, J.A.; AOYS, E.; WEISS-CARRINGTON, P. et al. The effect of glutamine-enriched TPN on gut immune cellularity. **Journal Surgery Research**, v.52, p.34-38, 1992.
- BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZÁLES, E.P. (Ed.) **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**, Jaboticabal:FUNEP/UNESP, 2002. p.75-96.
- EL-SAYED, A.M. **Tilapia culture**. London:Cabi. 2006. 277p.
- FLYNN, N.E.; WU, G. glucocorticoids play an important role in mediating the enhanced metabolism of arginine and glutamine in enterocytes of post weaning pigs, **The Journal of Nutrition**, p.732-737. 1997.
- FORTI, F.; CANCELLIERO, K.M. et al, O efeito da glutamina no músculo esquelético desnervado. **Saúde Revista**, v.5, n.9, p.59-65, 2003.
- FURUYA, W.M.; PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C. et al. Coeficientes de digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alguns ingredientes pela tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.) (Linhagem Tailandesa). **Acta Scientiarum.**, v.23, p.465-469, 2001.
- HALVER, J.E.; HARDY, R.W. Nutrient flow and retention. In: HALVER, J.E.; HARDY, R.W. (Eds) **Fish nutrition**. 3.ed., Academic Press, 2002. p.755-770.
- HOUSE, J.D.; PENCHARZ, P.B.; BALL, R.O. Glutamine supplementation to total parenteral nutrition promatial extracellular fluid expansion in piglets. **The Journal of Nutrition**, v.131, p.396-404, 1994.
- JAUNCEY, K.; ROSS, B. **A guide to tilapia feed and feeding**. Scotland: University of Stirling, 1982. 111p.
- JOBLING, M. **Environmental Biology of fishes**. **Fish and Fisheries Series 16**. 1995 455p.

- KITT, S.J.; MILLER, P.S.; LEWIS, A.J. et al. Effects is diet and crystalline glutamina supplementation of growth performance and small intestine morphology of weanling pigs. **Journal Animal Science**, v.79, p.10, p. 230-238, 2001.
- LACKEYRAM, D.; YUE, X.; FAN, M.Z. Effects dietary supplementation of crystalline L-glutamine on the gastrointestinal tract and whole body growth in early-weaned piglets fed corn and soybean meal – based diets. **Journal Animal Science**, v. 79, p.11, 2001.
- LUNDSTEDT, L.M. **Aspectos adaptativos dos processos digestivos e metabólicos de juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) arraçoados com diferentes níveis de proteína e energia**. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos. 2003. 140p. Tese (Doutorado em Genética e Evolução) – Universidade Federal de São Carlos, 2003.
- MAIORKA, A., SILVA, A.V.F., SANTIN, E. et al. Influência da suplementação de glutamina sobre o desempenho e o desenvolvimento de vilos e criptas do intestino delgado de frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.5, p.487-490, 2000.
- MURAKAMI, A.E.; SAKAMOTO, M.I.; NATALI, M.R.M. et al. Supplementation f glutamine and vitamin E on the morphometry of the intestinal mucosa in broiler chickens. **Poultry Science**, v.86, p.488-495, 2007.
- NEWSHOLME, P.; LIMA, M.M.R.; PROCOPIO, J.T.C. et al. Glutamine and glutamate as vital metabolites. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.36, p.153-163, 2003.
- NRC. 1993. **National Research Council – Nutritional Requirements of fishes**. Washington:Academic Press. 114 p.
- PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; PEZZATO, A.C. et al. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1595-1604, 2002.
- RIBEIRO, S.R.; PINTO JÚNIOR, P.E.; MIRANDA, A.C. et al. Weight loss and morphometric study of intestinal mucosa in rats after massive intestinal resection. influence of a glutamine-enriched diet. **Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo**, v.59, n.6, p.349-356, 2004
- SILVA, S.S.; QUEIROZ, S. **Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 2.ed., Imprensa Universitária: Viçosa, 2002. 235p.
- SMITH, R.J. Glutamine metabolism and its physiologic importance. **Journal Parenteral and Enteral Nutrition**, v.14, p.40S-44S, 1990.
- SOUBA, W.; KLIMBERG, V. The role of glutamine in maintaining a healthily gut and supporting the metabolic response to injury and infection. **Journal Parenteral and Enteral Nutrition**, v.48, p.383-391, 1990
- TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. **An atlas of fish histology – normal and pathological features**. 2.ed Tokio: Kondansha Ltda, 1995, 195p.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **Sistema de análises estatísticas e genéticas – SAEG**. Versão 6.0. Viçosa, MG, 1982. 52p.

- WU, G. Effects of concanavalin A and phorbol myristate acetate on glutamine metabolism and proliferation of porcine intraepithelial lymphocytes. **Biochemistry Physiology**, v.114A, p.363-368,1996
- WU, G.; KNABE, D.A.; YAN, W. et al. Glutamine and glucose metabolism in enterocytes of the neonatal pig. **American Journal Physiology**, v.137, p.R334-R342, 1995.
- YAN, L.; QIU-ZHOU, X. Dietary glutamine supplementation improves structure and function of intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Aquaculture**, v.256, p. 389-394, 2006.
- YI, G.F.; ALLEE, G.L. [2006] Revisão de literatura: Glutamina (Gln) e Glutamato (Glu). Disponível em: <<http://www.lisina.com.br>>. Acesso em: 28/01/2006.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

No Brasil, a criação de tilápias vem sendo realizada de forma cada vez mais intensiva, o que demanda a utilização de novas tecnologias para permitir o adequado desempenho e a saúde dos animais. Nesse sentido, a utilização de novos aminoácidos tem sido preconizada, principalmente durante a fase inicial de criação.

A glutamina e o glutamato são aminoácidos que podem ser utilizados em dietas para peixes, por melhorarem o desenvolvimento da mucosa intestinal e aumentar o desempenho dos animais, principalmente em dietas com baixos valores de inclusão de farinha de peixes e outros alimentos de origem animal.

Não houve aumento na altura das vilosidades intestinais e no desempenho produtivo de juvenis de tilápia do Nilo suplementados com níveis crescentes de L-glutamina e L-glutamato. A suplementação de L-glutamina e L-glutamato na dieta foi mais efetiva em peixes jovens apresentando efeito trófico sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal e aumento do ganho de peso em alevinos de tilápia do Nilo.